

# **VERBESSERUNG DER ARZNEIBUCHVORSCHRIFTEN UND IHRE ANGLEICHUNG AN DAS EUROPÄISCHE ARZNEIBUCH AM BEISPIEL VON ÄTHERISCHEN ÖLEN**

## **DISSERTATION**

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

vorgelegt bei der Naturwissenschaftlichen Fakultät IV  
- Chemie und Pharmazie -  
der Universität Regensburg

von

***Michaela Braun***

aus Mainburg

Regensburg 2002

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Januar 1999 bis November 2001 am Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie an der Universität Regensburg.

Sie wurde vom **Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte** in Bonn großzügig finanziell gefördert.

Die Arbeit wurde angeleitet von:

Prof. Dr. G. Franz

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht am:

08.01.2002

Tag der mündlichen Prüfung:

04.02.2002

Prüfungsausschuß:

Prof. Dr. S. Elz (Vorsitzender)

Prof. Dr. G. Franz (Erstgutachter)

Prof. Dr. C. Steinem (Zweitgutachter)

Prof. Dr. A. Göpferich (3. Prüfer)

# Inhaltsverzeichnis

<b><i>I. Einleitung</i></b>	<b><i>1</i></b>
<b>1. Allgemeines</b>	<b>1</b>
1.1 Entwicklungsgeschichte und Bedeutung ätherischer Öle	1
1.2 Verfälschungsproblematik	4
1.3 Aufbau von Ätherisch-Öl-Monographien der Arzneibücher	7
<b>2. Ziel der Arbeit</b>	<b>8</b>
2.1 Problemstellung	8
2.2 Auswahl der ätherischen Öle	10
<b><i>II. Ergebnisse und Diskussion</i></b>	<b><i>11</i></b>
<b>1. Untersuchung der ätherischen Öle</b>	<b>11</b>
1.1 Ätherische Öle der Pinaceae	11
1.1.1 Kiefernadelöl	11
1.1.1.1 DC-Untersuchung von Kiefernadelöl	13
1.1.1.2 Achirale GC-Untersuchung von Kiefernadelöl	15
1.1.1.3 Chirale GC-Untersuchung von Kiefernadelöl	19
1.1.1.4 Reinheitsprüfung von Kiefernadelöl - Bestimmung der Peroxidzahl	21
1.1.2 Latschenkiefernöl	23
1.1.2.1 DC-Untersuchung von Latschenkiefernöl	24
1.1.2.2 Achirale GC-Untersuchung von Latschenkiefernöl	24
1.1.2.3 Chirale GC-Untersuchung von Latschenkiefernöl	27
1.1.3 Diskussion der Monographie-Änderung	29
1.2 Ätherische Öle der Apiaceae	31
1.2.1 Bitteres Fenchelöl	32
1.2.1.1 Gaschromatographische Untersuchung von bitterem Fenchelöl	33
1.2.1.2 Diskussion der Monographie-Änderung	37
1.2.2 Süßes Fenchelöl	37
1.2.2.1 DC-Untersuchung	38

1.2.2.2 Gaschromatographische Untersuchung	40
1.2.2.3 Physikalische Reinheitsprüfungen nach Arzneibuch	44
1.2.2.4 Diskussion des Monographie-Entwurfs	45
1.2.3 Korianderöl	47
1.2.3.1 DC-Untersuchung von Korianderöl	48
1.2.3.2 Achirale Gaschromatographische Untersuchung von Korianderöl	50
1.2.3.3 Chirale Gaschromatographische Untersuchung von Korianderöl	53
1.2.3.4 Physikalische Reinheitsprüfungen nach Arzneibuch	56
1.2.3.5 Diskussion des Korianderöl-Monographie-Entwurfs	57
1.3 Ätherische Öle der Rutaceae	59
1.3.1 Bitterorangenblütenöl	59
1.3.1.1 DC-Untersuchung von Bitterorangenblütenöl	61
1.3.1.2 Achirale GC-Untersuchung von Bitterorangenblütenöl	62
1.3.1.3 Chirale GC-Untersuchung von Bitterorangenblütenöl	66
1.3.1.4 Diskussion der Monographie-Änderung	71
1.3.2 Petitgrainöl	72
1.3.2.1 Achirale GC-Untersuchung von Petitgrainöl	72
1.3.2.2 Chirale GC-Untersuchung von Petitgrainöl	73
1.4 Ätherische Öle der Lamiaceae	74
1.4.1 Lavendelöl	74
1.4.1.1 DC-Untersuchung von Lavendelöl	77
1.4.1.2 Achirale GC-Untersuchung von Lavendelöl	78
1.4.1.3 Chirale GC-Untersuchung von Lavendelöl	83
1.4.1.4 Diskussion der Monographie-Änderung	87
1.4.2 Salbeiöl	88
1.4.2.1 DC-Untersuchung von Salbeiöl	90
1.4.2.2 Achirale GC-Untersuchung von Salbeiöl	93
1.4.2.3 Chirale GC-Untersuchung von Salvia officinalis-Öl	98
1.4.2.4 GC-MS-Untersuchungen von Salvia officinalis-Öl	100
1.4.2.5 Physikalische Reinheitsprüfungen nach Arzneibuch	102
1.4.2.6 Diskussion des neuen Monographie-Entwurfs	102
<b>2. Diskussion</b>	<b>104</b>
<b>III. Zusammenfassung der Ergebnisse</b>	<b>106</b>

<b><i>IV. Experimenteller Teil</i></b>	<b><i>109</i></b>
<b>1. Materialien</b>	<b>109</b>
1.1 Handelsproben ätherischer Öle	109
1.2 Authentisches Drogenmaterial	115
1.3 Standardsubstanzen	117
1.4 GC-Säulen	118
<b>2. Methoden</b>	<b>119</b>
2.1 Gaschromatographie	119
2.1.1 GC-FID-Untersuchungen	119
2.1.2 GC-MS-Untersuchungen	120
2.2 Dünnschichtchromatographie	122
2.3 Wasserdampfdestillation	123
<b><i>Abkürzungsverzeichnis</i></b>	<b><i>124</i></b>
<b><i>Literaturverzeichnis</i></b>	<b><i>126</i></b>
<b><i>Liste der Vorträge, Posterpräsentationen und Publikationen</i></b>	<b><i>134</i></b>

# **I. Einleitung**

## ***1. Allgemeines***

### **1.1 Entwicklungsgeschichte und Bedeutung ätherischer Öle**

Ätherische Öle werden schon seit der frühen Antike als Duft- und Geschmacksstoffe geschätzt. Kräuter und Hölzer reich an ätherischen Ölen wurden verbrannt, um mit dem entstehenden Duft die Götter freundlich zu stimmen. Von dieser Praktik leitet sich das Wort „Parfum“ -per fumum- (lat.: durch den Rauch) ab. Vereinzelt wurden ätherische Öle damals auch zur Desinfektion von Räumen verwendet. Rudimentäre Ansätze zur Gewinnung durch Destillation wurden im 9. Jhdt. von den Arabern verbessert. Zur entscheidenden systematischen Entwicklung der „Destillierkunst“ kam es jedoch erst im 13. Jhdt., vor allem durch den katalanischen Arzt Arnold de Villanova (1235-1311). Ab diesem Zeitpunkt wurden ätherische Öle von Apothekern destilliert und zur Heilung und Linderung von Krankheiten eingesetzt. Ab dem 16. Jhdt. fanden ihre Eigenschaften Eingang in diverse Pharmakopoeen, wie z. B. das Dispensatorium Noricum (1543). In der ersten Hälfte des 19. Jhdts. wurde aufgrund des ständig steigenden Bedarfs die Produktion ätherischer Öle im industriellen Maßstab aufgenommen. Zu dieser Zeit hatte sich Grasse (Frankreich) zur Hochburg der ätherisch-Öl- und Parfümproduktion entwickelt. Hier wurde im 18. Jhdt. das sog. Enfleurage-Verfahren entwickelt. Dieses dient zur schonenden Gewinnung wertvoller ätherischer Öle aus nicht destillierbaren Blüten wie Jasmin und Veilchen. Die Blüten werden auf Fette aufgestreut, wobei durch direkten Kontakt mit dem Fett ätherisches Öl bei niedrigen Temperaturen extrahiert werden kann. Da diese Methode sehr arbeitsaufwendig ist, ist sie heute fast vollständig anderen Extraktionsverfahren, v. a. der überkritischen CO<sub>2</sub>-Extraktion gewichen [10-12].

Die Strukturaufklärung der ätherisch-Öl-Komponenten nahm 1880 durch Otto Wallach, einem Mitarbeiter von Kekulé, eine entscheidende Wendung. Die Existenz von Kohlenwasserstoffen der Grundformel  $C_{10}H_{16}$  war bereits bekannt, und sie hatten von Kekulé den Namen „Terpene“ aufgrund ihrer Anwesenheit in Terpentinöl erhalten. Eine weitere Gruppe mit den Formeln  $C_{10}H_{16}O$  und  $C_{10}H_{18}O$ , die den allgemeinen Namen „Campher“ erhalten hatte, war ebenfalls bekannt. Wallachs Forschungen führten zur Aufklärung einiger häufig vorkommender Monoterpene wie Pinen, Camphen, Limonen, Terpinen, Terpinolen und Phellandren. Sogar zu ihrer Biosynthese stellte Wallach bereits Vermutungen an. Mit seinen Untersuchungen legte er den Grundstein der Terpenforschung und erhielt dafür 1910 den Nobelpreis. Seither wurden die Strukturen einer großen Vielfalt von Terpenen, derzeit beläuft sich ihre Zahl auf etwa 5000, davon etwa 200 Monoterpene, und etwas später auch der Phenylpropane aufgeklärt. Dies wurde besonders durch die stetige Verbesserung der analytischen Methoden möglich. In der Folge konnten durch die Fortschritte der synthetischen organischen Chemie Terpene und Phenylpropane semisynthetisch oder vollsynthetisch hergestellt werden. Angefangen hatte diese Entwicklung bereits 1856, als Chiazza semisynthetischen Zimtaldehyd herstellte; die erste Vollsynthese, von Linalool, gelang 1955. Synthetische Substanzen sind wesentlich billiger als semisynthetische und die genuinen ätherischen Öle. Gerade in der Duftstoff- und Parfümindustrie werden synthetische Monosubstanzen heute in hohem Maße verwendet [10,12].

Neben ihrer Bedeutung in der Aromastoffindustrie spielen die ätherischen Öle eine zunehmende Rolle in der Phytotherapie und der sog. Aromatherapie. Ein großer Teil der phytotherapeutischen Präparate besteht aus Zubereitungen ätherischer Öle oder ätherisch-Ölhaltiger Drogen. Meist werden dabei verschiedene Öle oder alkoholische Drogenauszüge kombiniert. Es stehen Kapseln, Säfte, Tropfen, Salben, Cremes, Einreibungen und Bäder zur äußerlichen sowie innerlichen Anwendung zur Verfügung. In erster Linie wird der hyperämisierende und analgetische Effekt bei rheumatischen und rheumatoiden Beschwerden, stumpfen Traumen und Sportverletzungen ausgenutzt. Bei diesen Indikationen werden v. a. Eucalyptusöl, Rosmarinöl, Campher, gereinigtes Terpentinöl und Wacholderbeeröl eingesetzt. Für Kamillenöl, Schafgarbenblütenöl und Arnikaöl konnten antiphlogistische und granulationsfördernde Wirkungen nachgewiesen werden. Innerlich verwendet man bei Katarrhen der oberen Luftwege ätherische Öle von Koniferen, Anis, Fenchel, Thymian und

Eukalyptusblättern, aber auch Monosubstanzen wie Thymol, Levomenthol und Campher. Bei krampfartigen Magen- und Darmbeschwerden, Meteorismus und Flatulenz wirken Fenchel-, Anis-, Kümmel-, Koriander-, Pfefferminz-, Basilikum- und Kamillenöl spasmolytisch und blähugstreibend. Sedative Eigenschaften sind für die ätherischen Öle von Baldrian, Hopfen, Melisse und Lavendel nachgewiesen. Für Campher, Rosmarinöl, Pfefferminzöl und auch für Lavendelöl existieren Zubereitungen mit kreislaufanregender Wirkung. [13-15]

In der Aromatherapie werden ätherische Öle mit fetten (Basis-)Ölen verdünnt und für Massagen verwendet. Aber auch die Inhalation und die Verwendung als Badezusatz sind Bestandteil der Aromatherapie, die in erster Linie zur Linderung von Streß und streßbedingten Krankheiten aber auch als Begleittherapie bei schweren Erkrankungen geeignet ist. Auch über die Anwendung ätherischer Öle während der Schwangerschaft und Geburt wird berichtet [16]. Problematisch in der Aromatherapie ist der ausschließliche Nachweis der Wirksamkeit in vitro. Placebokontrollierte Doppelblindstudien sind schwer durchführbar und erfordern zuallererst eine genaue Charakterisierung des ätherischen Öls, was jedoch meistens mißachtet wird [16]. Ein weiteres Problem stellen die „Aromatherapeuten“ selbst dar, die in der Regel eine paramedizinische Ausbildung besitzen und von der chemischen Struktur und Wirkung ätherischer Öle kaum Ahnung haben [17]. Damit verbunden ist auch der Irrglaube, daß ätherische Öle als Naturstoffe keinerlei Nebenwirkungen aufweisen.

Im allgemeinen sind Nebenwirkungen ätherischer Öle nur bei einem nicht bestimmungsgemäßen Gebrauch, vor allem bei Überdosierungen zu erwarten. Bei Mißbrauch können sie jedoch schwere toxische Reaktionen auslösen. An erster Stelle der unerwünschten Wirkungen ist die Kontaktdermatitis zu nennen, die bei direktem Kontakt der Haut mit ätherischen Ölen, wie bei Massage und Bädern, häufig auftreten kann. Vor allem Öle mit einem hohen Anteil an ungesättigten Terpenkohlenwasserstoffen können allergische Reaktionen auslösen. Es sollen jedoch nicht die Terpene selbst, sondern Oxidationsprodukte dafür verantwortlich sein [38]. Die Agrumenöle besitzen unterschiedliche Anteile an Cumarinderivaten, da sie nicht durch Destillation, sondern durch Auspressen gewonnen werden. Sie können deshalb photosensibilisierende und phototoxische Wirkungen haben [13]. Besondere Vorsicht bei der Anwendung ätherischer Öle ist bei Schwangeren, Säuglingen und Kleinkindern geboten. Einige wirken abortiv, andere können Bronchospasmen, bis hin zum Atemstillstand, verursachen [18]. Auch bei Asthmadisposition ist von einer Anwendung



ätherischer Öle abzuraten [19]. Darüber hinaus besitzen einige bestimmte ätherische Öle nephrotoxische, hepatotoxische oder kanzerogene Wirkungen.

## 1.2 Verfälschungsproblematik

Die ISO definiert ätherische Öle als: „die durch Wasserdampfdestillation von Pflanzenteilen gewonnenen Produkte sowie die durch Auspressen der Fruchtschalen einiger *Citrus*-Arten gewonnenen Öle“. Sie sind flüssige, stark riechende Stoffgemische von ölartiger Konsistenz, die in Wasser schwer löslich sind. Daneben gibt es naturidentische ätherische Öle, die einem natürlichen Öl nachempfunden sind. Sie werden aus Substanzen zusammengestellt, die synthetisch hergestellt oder durch chemische Verfahren isoliert wurden und sind weitgehend identisch mit phytogenen Ölen. Künstliche ätherische Öle haben kein natürliches Pendant und werden heute in hohem Maße zur Parfümherstellung eingesetzt. Sie weisen unterschiedliche Eigenschaften auf, sind somit leicht identifizierbar und von natürlichen und naturidentischen Ölen unterscheidbar. Dagegen ist die Unterscheidung zwischen natürlichen und naturidentischen ätherischen Ölen aufgrund der chemischen Übereinstimmung schwieriger. Es fehlen jedoch im naturidentischen Öl die für phytogene Öle charakteristischen Spurenkomponenten, die mittels GC nachgewiesen werden können.

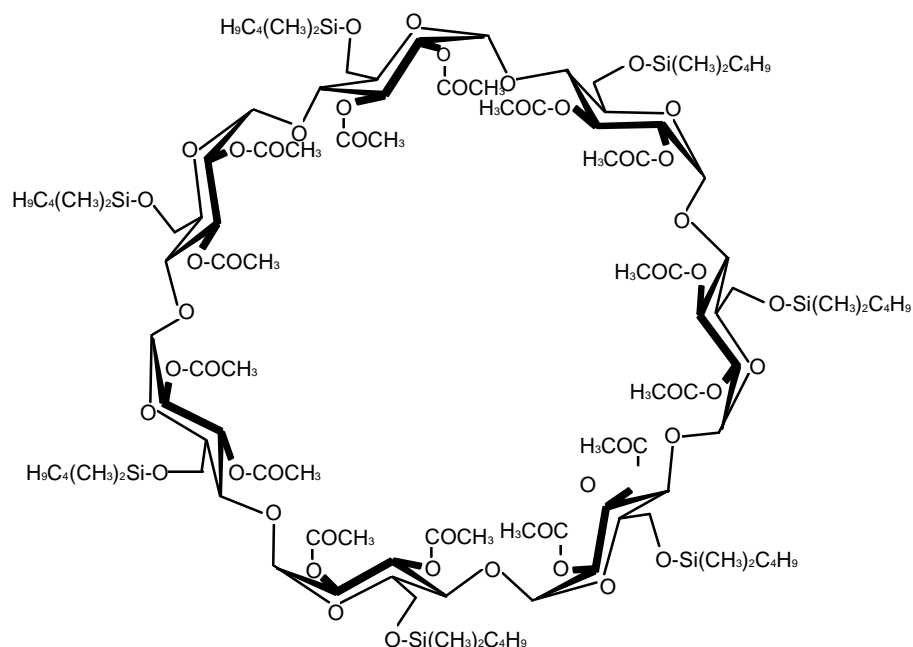
Häufig werden im Handel jedoch keine vollständig naturidentischen Öle angeboten, sondern es werden den phytogenen Ölen fremde Substanzen zugesetzt. So wird einerseits die Ausbeute teurer Öle erhöht, andererseits wird durch den gezielten Zusatz öleigener Substanzen versucht, minderwertige Öle aufzubessern. Vor der Einführung empfindlicher chromatographischer Methoden gestaltete sich der Nachweis von Zusätzen schwierig. Früher waren grobe Verfälschungen mit Phthalsäureestern, Benzylalkohol, fetten Ölen, Paraffinen, Ethanol, Glykolen und Glycerolacetat gängige Praxis. Diese können durch Bestimmung der Kennzahlen wie Säurezahl und Esterzahl oder durch einfache Prüfungen wie Aufträufeln auf Filterpapier und Bestimmung der wasserlöslichen Anteile nachgewiesen werden. Auch die Bestimmung der relativen Dichte, des Brechungsindex und der optischen Drehung leisten zum Nachweis derartiger Verfälschungen gute Dienste. Bei den heute üblichen Verfälschungspraktiken stoßen diese Methoden jedoch an ihre Grenzen. Die ätherischen Öle werden mit synthetisch günstig hergestellten Monoterpenen und Phenylpropanen gestreckt, es werden Substanzen oder Fraktionen zugesetzt, die aus billigeren Ölen isoliert wurden und auch der Zusatz von ähnlich

zusammengesetzten, kostengünstigeren Ölen ist denkbar. Als Beispiele aus der Palette der Möglichkeiten ist der Zusatz von synthetischem Linalool und/oder Linalylacetat oder von Lavandinöl zu echtem Lavendelöl zu nennen. Die Beimengung ähnlicher Öle hat eine Veränderung des Inhaltsstoffmusters zur Folge, die in der Regel gaschromatographisch gut erkennbar ist. Bei o. g. Beispiel ist die Streckung von echtem Lavendelöl durch Lavandinöl an erhöhten Werten für Cineol und Campher erkennbar. Für die Beurteilung derartiger Veränderungen werden Grenzwerte als Anhaltspunkte benötigt, die aus der Untersuchung einer möglichst großen Anzahl authentischer Proben hervorgegangen sind. Solche Grenzwerte sind als Qualitätsmerkmal für einige ätherische Öle in Arzneibüchern festgelegt.

Mit fortschreitender Aufklärung der Biosynthese von Monoterpenen zeigte sich, daß die beteiligten Enzyme mit hoher Stereoselektivität arbeiten. Ermöglicht wurde der Nachweis von reinen Enantiomeren in ätherischen Ölen durch die Entwicklung empfindlicher Analysenmethoden. Die Kapillargaschromatographie (CGC) ist das wichtigste Werkzeug zur Untersuchung chiraler Verbindungen in ätherischen Ölen. Die optischen Antipoden konnten anfänglich erst nach Derivatisierung mit Reagenzien wie (-)-Menthylchlorformiat oder 2-Phenylpropionylchlorid getrennt werden [20]. Neben den hohen Kosten der chiralen Reagenzien führten Nachteile wie Ungenauigkeiten bei der Quantifizierung der Substratenantiomeren und geringe Flüchtigkeit der gebildeten Diastereomeren dazu, daß die Derivatisierung zur chiralen Trennung heute kaum noch eingesetzt wird. Erste Enantiomerentrennungen ohne Derivatisierung wurden ab 1966 durch die Entwicklung chiraler Säulen möglich, die auf Aminosäurederivaten basierten [21]. Durch Verwendung von polymeren Amiden konnte 1977 eine bessere Enantioselektivität und Temperaturbeständigkeit der Säulen erreicht werden. Etwa zeitgleich wurden verschiedene Metallkomplexe wie Nickel(II), Mangan(II) oder Kobalt(II) bis[3-(heptafluorobutanoyl)-(1R)-camphorat eingesetzt, wodurch die Enantiomerentrennung durch Komplexierungs-GC erreicht werden konnte [22]. Der Durchbruch in der stereoselektiven GC-Analytik gelang jedoch erst Anfang der 80er mit den Cyclodextrinen, die sich als robuste, vielfach einsetzbare chirale stationäre Phasen erwiesen. Dabei handelt es sich um  $\alpha$ -1,4-verknüpfte cyclische Oligomere der  $\alpha$ -D-Glucopyranose. Die aus 6 ( $\alpha$ ), 7 ( $\beta$ ) oder 8 ( $\gamma$ ) Einheiten bestehenden Moleküle bilden eine sog. Becherform. Da die Cyclodextrine unter 250 °C als kristalline Festkörper vorliegen, müssen sie in mittelpolaren, flüssigen Polysiloxanen gelöst werden, um sie als dünnen Film (in der Regel 0,25  $\mu$ m) auf Kapillarsäulen aufzubringen. Durch Einfügen von Alkyl- bzw.

Acylresten in Position 2, 3 und 6 erhält man temperaturbeständige modifizierte Cyclodextrine mit unterschiedlichem Trennverhalten, die zum Teil sogar flüssig sind [23-25]. Die Strukturformel eines modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrins ist in **Abb. 1** dargestellt.

**Abb. 1:** 2,3-Diacetyl-6-tert-butylidimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin



Das Trennprinzip durch modifizierte Cyclodextrine ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Vermutlich haben zwei enantiomere Verbindungen unterschiedliche Affinitäten zu den sog. „chiral cavities“ und verbleiben somit unterschiedlich lange auf der Säule. Daraus ergibt sich der Nachteil, daß keine Vorhersagen zum Trennverhalten eines Enantiomerenpaares, z. B. aufgrund der Strukturformel, gemacht werden können. Zudem ist die Trennung nicht auf jeder Cyclodextrin-Phase gleichermaßen möglich. In der Regel können nicht alle relevanten Enantiomerenpaare eines ätherischen Öls auf der selben Säule getrennt werden, so daß man sich auf die Bestimmung der zwei oder drei wichtigsten und aussagekräftigsten chiralen Verbindungen beschränken muß.

Durch die chirale GC-Untersuchung können unerlaubte Zusätze synthetischer Reinsubstanzen zu ätherischen Ölen nachgewiesen werden, sofern es sich um optisch aktive Verbindungen handelt. Die Reinheit der meisten dieser Substanzen wurde in den letzten Jahren stetig verbessert, wodurch mit der „herkömmlichen“ achiralen GC häufig keine Synthesenebenprodukte mehr nachweisbar sind [84].

Natürlich kann durch stereoselektive Analytik nur der Zusatz von Racematen nachgewiesen werden, Verfälschungen mit optisch reinen Substanzen werden mit dieser Methode nicht erfaßt. Jedoch sind diese in der Regel wesentlich teurer als Racemate und lohnen sich nicht für den Verschnitt ätherischer Öle. Chirale GC-Untersuchungen sind zudem nicht anwendbar, wenn in dem fraglichen ätherischen Öl natürliche Racemate vorliegen. Als weitere Voraussetzung werden optisch reine Referenzsubstanzen benötigt, die die Peakzuordnung ermöglichen sowie authentisches Probenmaterial, mit dem das natürliche Enantiomeren-Verhältnis bestimmt werden kann.

### **1.3 Aufbau von Ätherisch-Öl-Monographien der Arzneibücher**

Im aktuellen deutschen Arzneibuch (DAB 2001) befinden sich 7 Monographien für ätherische Öle, im europäischen Arzneibuch (Ph. Eur. 1997 mit NT 2001) 11 Monographien. Der Aufbau einer nationalen Monographie ist dem Aufbau einer europäischen Monographie prinzipiell angepasst. Im Abschnitt „Definition“ ist zum einen die Stammpflanze beschrieben, die für die Gewinnung des ätherischen Öls verwendet werden muß, zum anderen der/die zu verwendende/n Pflanzenteil/e aus dem das Öl gewonnen wird. Der Abschnitt „Eigenschaften“ beschreibt das Aussehen, die geruchlichen und geschmacklichen Qualitäten, sowie das Löslichkeitsverhalten. Unter „Prüfung auf Identität“ findet man eine dünnschichtchromatographische und gegebenenfalls auch eine gaschromatographische Prüfung. Die Identifizierung erfolgt hierbei durch das charakteristische Fingerprint-Chromatogramm eines ätherischen Öls. Im Abschnitt „Prüfung auf Reinheit“ werden Werte für die Überprüfung der relativen Dichte, des Brechungsindex, der optischen Drehung und der Säurezahl angegeben. Des weiteren können Vorschriften zur Prüfung auf fremde Ester, fette Öle, verharzte ätherische Öle und der Peroxidzahl aufgeführt sein. Auch das chromatographische Profil ist bei der Prüfung auf Reinheit beschrieben. Es enthält genaue Angaben zur Durchführung sowie Grenzwertangaben für relevante Inhaltsstoffe. Die traditionellen Methoden zur Gehaltsbestimmung, wie die „Hydroxylaminmethode“, Bestimmung des Estergehalts durch Hydrolyse oder des Phenolgehalts mit Cassiakolben, sind in den letzten Jahren mehr und mehr dem chromatographischen Profil gewichen. Damit ist eine wesentlich genauere Quantifizierung von mehreren Inhaltsstoffen gleichzeitig möglich. Den Abschluß einer ätherisch-Öl-Monographie bilden die Hinweise zur „Lagerung“.

## **2. Ziel der Arbeit**

### **2.1 Problemstellung**

Die Aufnahme geeigneter empfindlicher Untersuchungsmethoden in die Arzneibücher zum Nachweis verfälschter ätherischer Handelsöle ist ein wesentlicher Schritt zur Lösung bzw. Reglementierung des Problems. Dabei muß unter Abwägen von Kosten und Nutzen ein Mittelweg zwischen maximal Möglichem und unbedingt Nötigem gefunden werden

Die gaschromatographische Analytik stellt die beste Methode zur Identitäts-, Reinheits- und Gehaltsbestimmung ätherischer Öle dar. Obwohl sie bereits verstärkt Eingang in das europäische und deutsche Arzneibuch gefunden hat, besteht noch Ergänzungs- und Verbesserungsbedarf bei einer Vielzahl von Ätherisch-Öl-Monographien, insbesondere da eine Reihe von Monographien noch kein „Chromatographisches Profil“ beinhaltet. Dies sollte möglichst rasch beseitigt werden, da die Arzneibücher mit dem Stand der Technik Schritt halten und den Forderungen der Industrie nach einheitlichen Regelungen nachkommen müssen.

Um die Authentizität eines ätherischen Öls zu bestimmen reicht häufig die qualitative und quantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe nicht aus, da diese, wie für Naturprodukte üblich, große natürliche Schwankungen aufweisen. Verschiedene Cyclodextrin-Derivate können als stationäre chirale Phase zur Trennung optisch aktiver Komponenten ätherischer Öle eingesetzt werden. Der Zusatz synthetischer Racemate zu ätherischen Ölen kann durch eine Veränderung der natürlichen Enantiomerenverhältnisse erkannt werden. Bisher wird eine derartige Methode nur in der Monographie „Kümmelöl“ des DAB beschrieben. Die Anwendung bei einer Reihe weiterer ätherischer Öle ist wünschenswert, da die chirale GC derzeit mit zu den besten Methoden zur Erkennung von Verfälschungen ätherischer Öle zählt.

Die Arbeit sollte die Fortführung einer früheren Dissertation [26] darstellen, die ebenfalls vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) angeregt und gefördert wurde. Wegen der anhaltenden Aktualität des Themas entschloß sich das BfArM zur Weiterführung der Arbeiten. Die Arbeiten in der europäischen Arzneibuchkommission gehen relativ langsam vonstatten, da zur Veröffentlichung einer Monographie das Einverständnis aller Mitgliedsstaaten notwendig ist. Deshalb enthalten noch immer nicht alle ätherisch-Öl-Monographien der Ph. Eur. ein chromatographisches Profil. Es sollten gaschromatographische achirale Methoden entwickelt werden, die unter allgemein üblichen Bedingungen auch von nicht spezialisierten Labors durchgeführt werden können.

Zusätzlich sollten bestehende achirale chromatographische Profile durch chirale Methoden ersetzt werden, falls dadurch die Erkennung von Verfälschungen erleichtert wird. Jedoch sollte auch diese Bestimmung der Enantiomerenverteilung möglichst einfach durchführbar sein. Mehrdimensionale GC oder Vortrennung mit DC oder HPLC sind dafür nicht geeignet, da dies einen zu großen zeitlichen und technischen und damit finanziellen Aufwand erfordert. Eindimensionale GC mit einem unkomplizierten, möglichst kurzen, aber effektivem Temperaturprogramm sollte die Methode der Wahl sein. Die dafür eingesetzten chiralen Säulen müssen ebenso wie die Referenzsubstanzen im Handel erhältlich sein. Falls für eine zu bestimmende Substanz die reinen Enantiomeren nicht erhältlich sind, darf die Elutionsfolge nach Untersuchung authentischer Proben in Ausnahmefällen per definitionem festgelegt werden.

Daneben sollten als Erweiterung der bestehenden Arzneibücher für eine Anzahl ätherischer Öle neue Monographien mit geeigneten DC- und GC-Methoden erstellt werden sowie die Eigenschaften und physikalischen Kennzahlen bestimmt werden.

## 2.2 Auswahl der ätherischen Öle

Die folgenden zu untersuchenden ätherischen Öle wurden vom BfArM vorgegeben:

Kiefernadelöl - *Pini aetheroleum*

Bitterfenchelöl - *Foeniculi amari aetheroleum*

Süßfenchelöl - *Foeniculi dulcis aetheroleum*

Korianderöl - *Coriandri aetheroleum*

Bitterorangenblütenöl - *Aurantii amari floris aetheroleum*

Lavendelöl - *Lavandulae aetheroleum*

Salbeiöl - *Salviae aetheroleum*

Die bereits bestehenden DAB-Monographien „**Kiefernadelöl**“ und „**Fenchelöl**“ sollten durch ein „Chromatographisches Profil“ ergänzt werden. Für **Lavendelöl** und **Bitterorangenblütenöl** hingegen sollte die in den Monographien der Ph. Eur. 1997 NT 2001 bereits bestehende achirale chromatographische Methode überarbeitet und gegebenenfalls durch eine chirale Methode ersetzt werden. Für **süßes Fenchelöl**, **Korianderöl** und **Salbeiöl** sollten völlig neue Monographien für das DAB, bzw. die Ph. Eur. erarbeitet und zusammengestellt werden.

Die Zusammensetzung von ätherischen Ölen unterliegt, wie alle Naturstoffe, gewissen quantitativen Schwankungen, die je nach Öl stärker oder schwächer ausgeprägt sind. Mit diesen quantitativen Schwankungen sind unmittelbar auch qualitative Schwankungen verbunden, besonders wenn die Wirkung des ätherischen Öls von einzelnen Inhaltsstoffen abhängt. Um neue Monographien, bzw. chromatographische Profile zu erstellen wurde ein möglichst breiter Querschnitt an Handelsölen untersucht. Des weiteren wurde die Zusammensetzung ätherischer Öle, die als Verfälschung oder Verwechslung in Frage kommen, in die Ergebnisse mit einbezogen. Zusätzlich wurde, falls erhältlich, authentisches Drogenmaterial nach der Vorschrift „Gehaltsbestimmung des ätherischen Öls in Drogen“ (2.8.12) der Ph. Eur. 1997 destilliert und nachfolgend analysiert. Trotzdem genügen diese Untersuchungen in der Regel nicht, um der Vielfältigkeit ätherischer Öle ausreichend Rechnung zu tragen. Deshalb wurden umfassende Literaturrecherchen zu den jeweiligen Pflanzen und Ölen durchgeführt, die in der Folge in die Festlegung der Grenzwerte mehr oder weniger stark eingeflossen sind.

## II. Ergebnisse und Diskussion

### 1. Untersuchung der ätherischen Öle

#### 1.1 Ätherische Öle der Pinaceae

Die Familie der Pinaceae zählt zur Unterklasse der Coniferae, der Nadelhölzer. Die immergrünen, nadelförmigen Blätter enthalten ätherisches Öl in schizogenen Exkretgängen. Die sog. Terpentine, ein Gemisch aus ätherischen Ölen und Harzen, sind in den Exkretsräumen des Stammes (Rinde und Holz) lokalisiert. Die Zusammensetzung des ätherischen Terpentins wird von Monoterpenkohlenwasserstoffen bestimmt. Der Harzanteil (Colophonium) besteht im wesentlichen aus Diterpensäuren. Die Nadelöle weisen neben den Monoterpenkohlenwasserstoffen Terpenalkohole und die entsprechenden Ester auf [28,29].

##### 1.1.1 Kiefernadelöl

Kiefernadelöl, *Pini aetheroleum*, ist das durch Wasserdampfdestillation aus den frischen Nadeln, Zweigspitzen oder frischen Ästen mit Nadeln und Zweigspitzen von *Pinus silvestris* L. oder anderen Arten der Gattung *Pinus* gewonnene ätherische Öl [4]. Es handelt sich um eine klare, farblose bis schwach gelbe Flüssigkeit von terpenartigem Geruch. Wie in der Definition festgelegt, unterscheidet das Arzneibuch nicht zwischen den ätherischen Ölen der verschiedenen *Pinus*-Arten. Als aktuelles Problem sollten mögliche Unterschiede zwischen Kiefernadelöl und Latschenkiefernöl analytisch ermittelt werden, die es rechtfertigen, daß zwei getrennte Monographien erstellt werden.

Dem arzneilich verwendeten Kiefernadelöl werden antibakterielle und sekretolytische Wirkungen zugeschrieben. Bei Katarrhen der oberen Luftwege erfolgt im Brustbereich und Rücken eine lokale Applikation. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit ist die Inhalation der ätherisch-Öl-Dämpfe nach Eintropfen in heißes Wasser. Kiefernadelöl ist wegen seiner



hyperämisierenden Wirkung häufig Bestandteil von Einreibungen und Badezusätzen, die zur unterstützenden Therapie bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises und bei neuralgiformen Beschwerden angewandt werden [15]. Die genannten Anwendungen entsprechen den Therapieempfehlungen der Kommission E für Kiefernadelöl [30].

Die Hauptbestandteile von Kiefernadelöl sind in wechselnden Anteilen die Monoterpene  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen und  $\Delta^3$ -Caren. Hinzu kommen weitere Monoterpene wie Camphen, Limonen, Myrcen,  $\beta$ -Phellandren, p-Cymen, Terpinolen,  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Terpinen,  $\alpha$ -Terpineol, Bornyl- und Terpinylacetat. Untersuchungen an ätherischen Ölen von *P. pinaster* zeigten, daß  $\alpha$ -Terpineol kein genuiner Bestandteil ist, sondern während der Destillation gebildet wird [31]. Vermutlich ist dies auch beim Öl von *P. silvestris* der Fall.  $\beta$ -Caryophyllen und das entsprechende Oxid sowie  $\alpha$ -Humulen sind die wichtigsten Sesquiterpene im Kiefernadelöl. Daneben sind weitere charakteristische Komponenten in Anteilen unter 1 % enthalten, wie z. B. Tricyclen [32-35].

Die Zusammensetzung des ätherischen Öls variiert sehr stark. Das zur Destillation verwendete Ausgangsmaterial spielt dabei eine bedeutende Rolle, da das ätherische Öl aus dem Holz des Stammes, aus den Ästen und aus den Nadeln unterschiedlich zusammengesetzt ist [35]. Werden hauptsächlich Zweige mit hohem Holzanteil und wenig Nadeln verwendet, so sind vermehrt Monoterpenkohlenwasserstoffe zu finden. Werden dagegen nur junge Zweige mit hohem Nadelanteil destilliert, so erhält man ein ätherisches Öl mit erhöhten Mengen an Terpenalkoholen und Estern [29]. Daneben sind starke Schwankungen in der ätherisch-Öl-Zusammensetzung nicht nur zwischen den Populationen verschiedener Standorte, sondern auch innerhalb einer Population zu beobachten. Die Variationen sind von genetischen und klimatischen Bedingungen sowie vom Zeitpunkt der Ernte abhängig [34,35].

Man erhält Kiefernadelöl minderer Qualität, wenn das zur Destillation verwendete Material bereits einige Zeit gelagert wurde und nicht im frischen Zustand zur Verarbeitung gelangt [36]. Verfälschungs- bzw. Verwechslungsmöglichkeiten bestehen mit den sog. „Pine Oils“. Dabei handelt es sich um verschiedene technische Produkte, wie etwa die höher siedenden Fraktionen von Wurzelterpentinöl oder amerikanischem Kienöl. Daneben existieren synthetische Öle, die aus  $\alpha$ -Pinen durch Hydratisierung mit anschließender Destillation gewonnen werden [37]. Andere Verwechslungsmöglichkeiten bestehen mit den Ölen der Arten *Abies* und *Picea*.

### 1.1.1.1 DC-Untersuchung von Kiefernadelöl

Das DAB 2001 lässt die Identität von Kiefernadelöl ausschließlich mittels DC überprüfen. Dazu wird als stationäre Phase eine DC-Platte mit Kieselgel *R* vorgeschrieben. Die Entwicklung erfolgt zweimal mit Dichlormethan *R* über eine Laufstrecke von 10 cm. Für die Untersuchungslösung werden 30 µl Öl in 1,0 ml Toluol *R* gelöst, 20 µl davon werden bandförmig auf die Platte aufgetragen. Für die Referenzlösung werden 40 µl Bornylacetat *R* und 5 mg Borneol *R* in 10 ml Toluol *R* gelöst und 10 µl davon auf die DC-Platte aufgetragen. Nach Verdunsten der mobilen Phase bei Raumtemperatur wird die Platte mit Anisaldehyd-Reagenz *R* besprüht und 10 bis 15 min lang bei 100 bis 105 °C erhitzt. Die Auswertung erfolgt im Tageslicht. Nach DAB 2001 erscheint im Chromatogramm der Referenzlösung als unterste Zone das braungraue Borneol und weiter oberhalb die gleichfarbige Bornylacetat-Zone (**Abb. 2**). Das Chromatogramm der Untersuchungslösung zeigt wenig unterhalb der Fließmittelfront eine starke, violett gefärbte Hauptzone der Terpenkohlenwasserstoffe. Die weniger ausgeprägte Zone des Bornylacetats ist deutlich schwächer als diejenige der Referenzlösung. In der unteren Hälfte liegen 3 bis 4 mittelstarke bis starke blauviolette Zonen. Eine rosarote Zone, die sich etwa in der Mitte des Chromatogramms der Untersuchungslösung befindet, ist je nach dem Alter des Öls mehr oder weniger stark ausgeprägt. Eine Borneol-Zone ist nicht erkennbar.

**Abb. 2** Schematische Darstellung eines typischen Kiefernadelöl-DCs auf Kieselgel nach DAB 2001

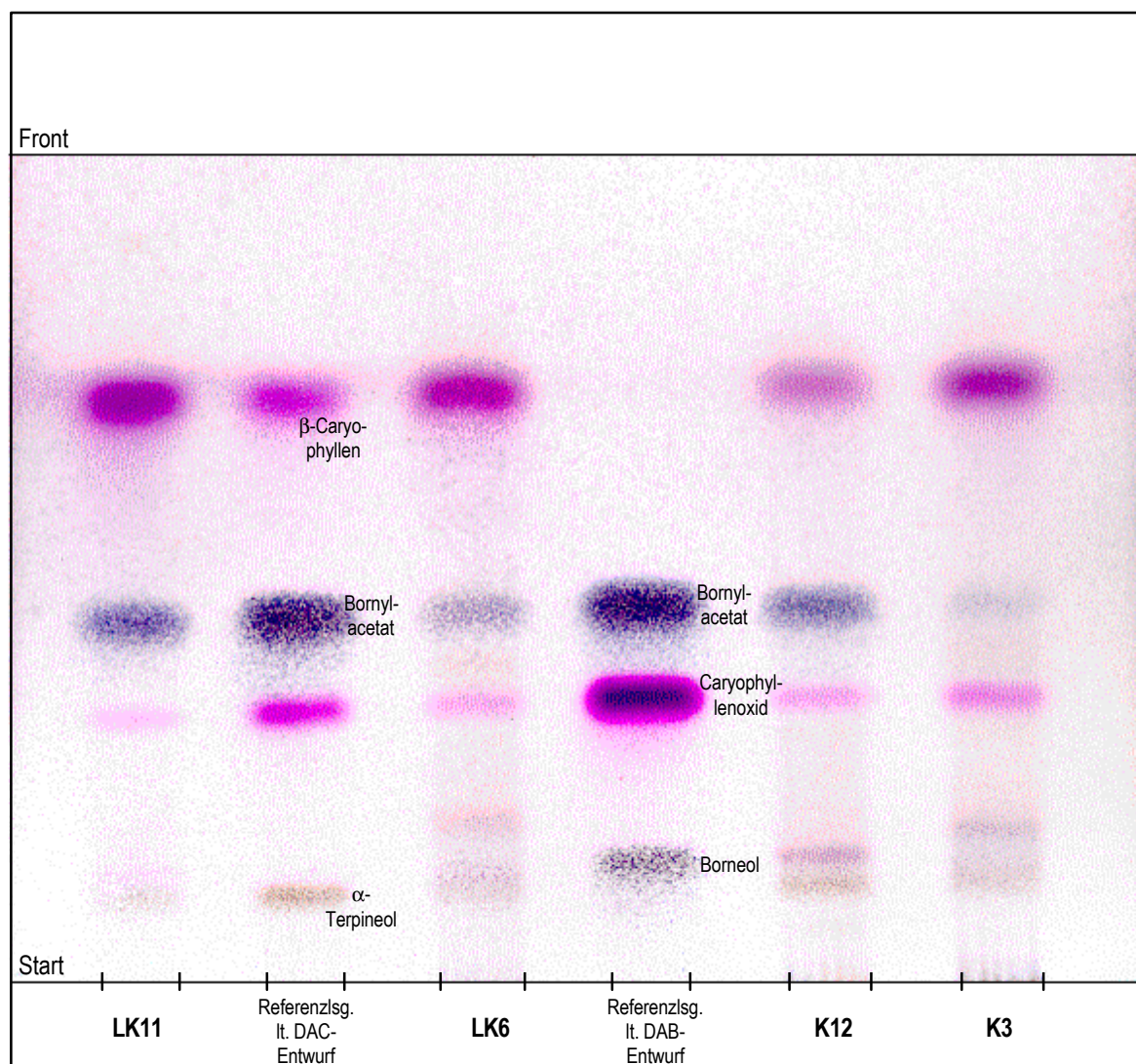
Oberer Plattenrand	
	Eine intensive violette Zone (Terpenkohlenwasserstoffe)
Bornylacetat: eine braungraue Zone	Eine schwache braungraue Zone (Bornylacetat)
	Eine schwache rosarote Zone (Caryophyllenoxid)
	3 bis 4 mittelstarke bis starke blau- violette Zonen
Borneol: eine braungraue Zone	Keine braungraue Zone
Referenzlösung	Untersuchungslösung

Der wesentliche Nachteil der genannten Methode ist die Verwendung von Dichlormethan als Fließmittel. Dieses sollte wegen seiner hepatotoxischen Eigenschaften nicht mehr verwendet werden. Als Alternative wurde eine Mischung aus 95 VT Toluol und 5 VT Ethylacetat

getestet. Es konnte eine gleichwertige Trennung der ätherisch-Öl-Komponenten erzielt werden. Als weitere Verbesserung wurde Caryophyllenoxid als zusätzliche Referenzsubstanz eingesetzt. Dieses entsteht bei überlagerten Ölen durch Oxidation aus  $\beta$ -Caryophyllen und übernimmt somit eine gewisse Indikatorfunktion für „alte“ Kiefernadelöle. Die aktuelle Monographie enthält einen Hinweis darauf (rosarote Zone, etwa in der Mitte des Chromatogramms), konkrete Angaben fehlen jedoch.

**Abb. 3** DC von Kiefernadelölen und Latschenkiefernölen des Handels

(Untersuchungslösung: 30  $\mu$ l Öl in 1 ml Toluol gelöst, Auftragsmenge 20  $\mu$ l; Referenzlösung: 40  $\mu$ l Bornylacetat, 5 mg Borneol und 20 mg Caryophyllenoxid gelöst in 10 ml Toluol, Auftragsmenge 10  $\mu$ l, Sprühreagenz: Anisaldehyd-Reagenz)



**K3, K12:** Kiefernadelöle des Handels, interne Chargen-Bezeichnung.

**LK6, LK11:** Latschenkiefernöle des Handels, interne Chargen-Bezeichnung.

Der Entwurf einer Latschenkiefernöl-Monographie für den DAC beinhaltet eine DC-Methode auf Kieselgel mit einer Mischung aus 95 VT Toluol und 5 VT Ethylacetat. Die Methode ist

identisch mit dem vorliegenden Entwurf, jedoch wird als Referenzlösung eine Mischung aus 10 µl  $\beta$ -Caryophyllen, 10 µl  $\alpha$ -Terpineol und 40 µl Bornylacetat, gelöst in 10 ml Toluol, verwendet. In **Abbildung 3** sind die Ergebnisse beider Referenzlösungen vergleichend dargestellt. Die Referenzlösung des DAC-Entwurfs ergibt vier, statt der erwarteten drei Banden. Die vierte Bande stammt vom Caryophyllenoxid, das immer, zumindest in kleinen Mengen, in der Referenzsubstanz von  $\beta$ -Caryophyllen enthalten ist. Da  $\alpha$ -Terpineol vermutlich ein Destillationsartefakt ist, das nur in geringen Mengen in Kiefernadelöl zu finden ist, ist seine Eignung als Referenzsubstanz zur Prüfung auf Identität zweifelhaft.

Mit der dargestellten DC-Methode ist die Prüfung auf Identität von Kiefernadelöl möglich. Die Hauptkomponenten  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen und  $\Delta^3$ -Caren werden im DC nicht erfaßt, sind jedoch auch nicht das ausschlaggebende Kriterium. Die Unterscheidung von Kiefernadel- und Fichtennadelöl wird einerseits durch das Fehlen der Borneol-Bande, andererseits durch die nur schwach ausgeprägte Bornylacetat-Bande im DC des Kiefernadelöls, gewährleistet. Die Intensität der Caryophyllenoxid-Bande kann entscheidende Hinweise auf die Qualität des Öls liefern, da sie verstärkt in überlagerten Ölen auftritt.

#### ***1.1.1.2 Achirale GC-Untersuchung von Kiefernadelöl***

Neben DAB 2001 führt die Ph. Helv. VII und das ÖAB eine Monographie „Aetheroleum Pini pumilionis“ für Latschenkiefernöl. In keiner der genannten Monographien ist eine gaschromatographische Methode zur Prüfung auf Reinheit aufgeführt. Als Ergänzung sollte deshalb für die DAB-Monographie eine GC-Methode zur Charakterisierung des ätherischen Öls entwickelt werden.

Für die achirale Untersuchung von Kiefernadelölen wurde eine mit Macroglol 20000 belegte Fused-Silica-Kapillarsäule der Länge 60 m mit einem ID von 0,25 mm gewählt. Als Trägergas wurde Helium bei einer Flußrate von 1,5 ml/min und ein Splitverhältnis von 1:100 verwendet. Die Temperatur der Säule wird 10 min lang bei 65 °C belassen, dann um 5 °C je Minute auf 220 °C erhöht und 4 min lang bei 220 °C gehalten. Die Temperatur des Probeneinlasses wird bei 200 °C und die des Detektors bei 220 °C gehalten. Für die Untersuchungslösung werden 0,5 g Öl in 10 ml Heptan gelöst. Die prozentualen Anteile ausgewählter Inhaltsstoffe von Kiefernadelölen des Handels sind in **Tab. 1** dargestellt. **Tab. 2** zeigt im Vergleich dazu die Zusammensetzung der selbst destillierten Kiefernadelöle.

**Tabelle 1:** Zusammensetzung verschiedener Kiefernadelöle des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

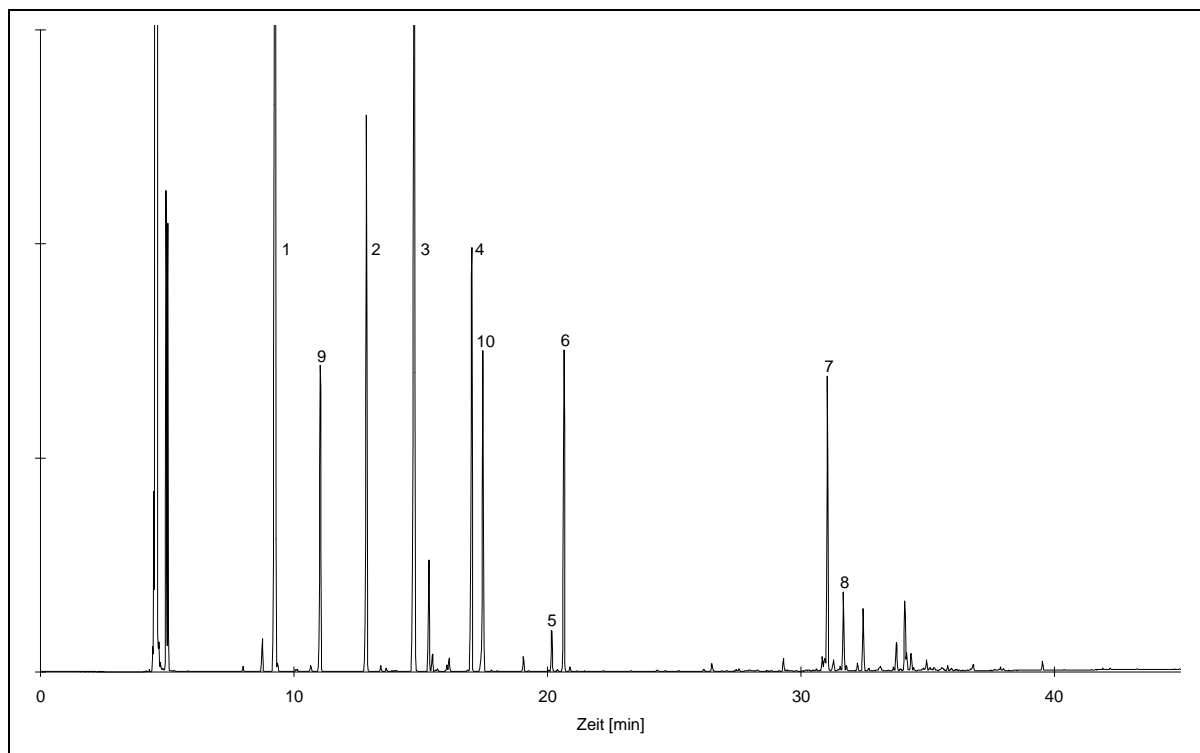
Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>K1</b>	13,04	0,57	12,98	1,66	0,79	58,88	0,39	0,50	4,96	2,66	0,16	n.n.
<b>K2</b>	46,81	2,03	12,48	2,11	3,17	9,54	11,04	0,24	0,47	0,46	1,08	0,09
<b>K3</b>	48,68	2,69	26,58	2,31	3,64	4,69	0,92	0,34	0,40	0,35	1,66	0,38
<b>K4</b>	12,46	10,37	4,03	2,72	0,56	18,06	3,55	0,09	0,49	8,29	0,19	0,44
<b>K5</b>	34,97	4,90	26,86	4,50	2,91	9,52	0,84	3,01	1,60	1,66	1,99	0,17
<b>K6</b>	60,47	2,53	8,23	5,19	3,29	7,86	1,53	0,97	0,63	1,17	0,98	0,05
<b>K7</b>	40,90	3,83	19,02	7,00	2,73	10,40	1,17	3,79	2,15	1,77	1,37	0,16
<b>K8</b>	61,69	3,69	8,00	7,81	1,14	5,55	0,65	0,82	0,09	1,53	0,57	0,54
<b>K9</b>	31,62	5,05	9,26	23,45	1,64	6,80	5,15	0,59	4,55	4,31	1,06	0,03
<b>K10</b>	40,05	1,30	12,38	26,02	3,72	3,66	1,51	0,35	1,92	0,25	0,86	0,38
<b>MW</b>	39,07	3,70	13,98	8,28	2,36	13,50	2,68	1,07	1,73	2,25	0,99	0,22
<b>K11</b>	35,78	2,69	13,39	21,59	0,88	6,95	0,43	1,42	1,79	4,75	2,77	0,24
<b>K12</b>	34,70	4,77	6,35	36,32	0,78	6,69	0,44	0,72	0,39	2,67	0,45	0,05

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Camphen, 3:  $\beta$ -Pinen, 4:  $\Delta^3$ -Caren, 5: Myrcen, 6: Limonen, 7:  $\beta$ -Phellandren, 8: p-Cymen, 9: Terpinolen, 10: Bornylacetat, 11:  $\beta$ -Caryophyllen, 12: Terpinylacetat; n.n. nicht nachweisbar.

Die Kiefernadelöle sind nach steigendem  $\Delta^3$ -Caren-Gehalt geordnet (**Tab. 1**). Die Handelsöle **K1** bis **K4** weisen einen auffallend niedrigen  $\Delta^3$ -Caren-Anteil auf. Dies könnte auf genetische Ursachen zurückgeführt werden. Die Untersuchung von *Pinus silvestris*-Ölen verschiedener Standorte in Finnland ergab, daß neben einem 3-carenreichen Typ (> 10 %) auch ein 3-carenarmer Typ (< 3 %) vorkommt [34]. Andererseits werden aber auch in Fichtennadelölen geringere Mengen an  $\Delta^3$ -Caren gefunden. Somit könnte auch eine Vermischung mit Fichtennadelöl oder Verwechslung der Ausgangsmaterialien zu diesen niedrigen Werten geführt haben. Diese Vermutung erhärtet sich bei Probe **K4**, da diese zusätzlich für Limonen und Bornylacetat erhöhte Werte aufweist. Fichtennadelöl enthält zwischen 4,0 und 30,0 % Limonen und zwischen 5,0 und 35,0 % Bornylacetat [4]. Die Probe **K1** enthält knapp 60 % Limonen. Da dieser Wert auch für andere Coniferenöle zu hoch ist, liegt die Vermutung nahe, daß es sich hier um eine Verfälschung mit synthetischem Limonen handelt. Die Proben **K2** und **K3** weisen erhöhte, die Proben **K6** und **K8** deutlich erhöhte Anteile an  $\alpha$ -Pinen auf. Da die

üblichen Werte für  $\alpha$ -Pinen nicht über 45 % liegen, geben diese Ergebnisse einen Hinweis auf den Zusatz von Terpentinöl. p-Cymen stellt ein Oxidationsprodukt dar, das unter dem Einfluß von Licht und Luftsauerstoff über Peroxidstufen aus  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Terpinen und Terpinolen gebildet wird [38]. Es ist zwar bereits in frisch destillierten Ölen zu finden, jedoch in sehr geringen Mengen [32,33]. Erhöhte Werte können als Indikator für überlagertes Öl dienen. Die Proben **K5** und **K7** weisen einen deutlich erhöhten Gehalt an p-Cymen auf. Auch der  $\beta$ -Caryophyllen-Gehalt kann einen Hinweis auf die Qualität des Kiefernadelöls geben, da qualitativ hochwertige Öle einen hohen Gehalt an Sesquiterpenen aufweisen sollten [32,33]. Bei der Lagerung nimmt der  $\beta$ -Caryophyllen-Anteil zugunsten des Caryophyllenoxid-Gehalts ab. Bei den Proben **K1**, **K4** und **K8** konnten auffallend niedrige Anteile an  $\beta$ -Caryophyllen festgestellt werden. Die naturidentischen Kiefernadelöle **K11** und **K12** entsprechen in ihrer Zusammensetzung einem durchschnittlichen Kiefernadelöl. Lediglich der p-Cymen-Anteil ist bei **K11** etwas erhöht und der  $\beta$ -Caryophyllen-Anteil bei **K12** zu gering. Das bedeutet, dass mit der dargestellten Methode naturidentische Öle nicht oder nicht immer ausgeschlossen werden können. Das in **Abb. 4** dargestellte GC zeigt die Probe **K9**, die ebenso wie **K10** keinen Anlaß zu Beanstandungen gab.

**Abb. 4** Typisches Gaschromatogramm eines Kiefernadelöls (**K9**), aufgezeichnet auf einer Macrogol-Säule 60 m (*Säule B*)



Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2:  $\beta$ -Pinen, 3:  $\Delta^3$ -Caren, 4: Limonen, 5: p-Cymen, 6: Terpinolen, 7: Bornylacetat, 8:  $\beta$ -Caryophyllen, 9: Camphen, 10:  $\beta$ -Phellandren.

Die Zusammensetzung der selbst destillierten Öle (**Tab. 2**) ist nicht direkt mit dem Inhaltsstoffmuster der Handelsöle vergleichbar, da diese in Großansätzen unter anderen Bedingungen destilliert und danach rektifiziert werden [39]. Dennoch korrelieren die Werte recht gut mit den Ergebnissen der Handelsöle. Lediglich die Werte des Limonens und des Bornylacetats sind etwas niedriger als bei einem durchschnittlichen Handelsöl.

**Tabelle 2:** Zusammensetzung selbst destillierter Kiefernadelöle  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>K13</b>	27,61	1,64	3,65	13,72	1,33	0,48	0,26	0,05	1,39	0,33	6,47	1,38
<b>K14</b>	26,08	1,32	14,34	18,53	5,68	1,61	0,71	0,04	1,82	0,40	4,04	0,69

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Camphen, 3:  $\beta$ -Pinen, 4:  $\Delta^3$ -Caren, 5: Myrcen, 6: Limonen, 7:  $\beta$ -Phellandren, 8: p-Cymen, 9: Terpinolen, 10: Bornylacetat, 11:  $\beta$ -Caryophyllen, 12: Terpinylacetat.

**Tabelle 3:** Zusammensetzung von Kiefernadelölen des Handels gewonnen aus unterschiedlichen Arten der Gattung *Pinus*

GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>K15</b>	27,53	4,77	14,16	11,88	2,56	12,78	4,26	6,00	1,31	3,66	1,09	0,24
<b>K16</b>	38,08	1,34	10,71	0,77	1,50	15,09	21,22	0,06	0,32	0,43	0,41	0,18
<b>K17</b>	51,37	0,92	5,14	0,68	2,85	4,60	11,60	0,28	1,42	0,53	2,73	0,87
<b>K18</b>	44,18	0,65	29,24	3,09	2,94	2,49	0,61	0,13	0,38	2,07	5,51	0,34
<b>K19</b>	76,22	0,80	13,92	n.n.	0,53	2,71	0,28	0,07	0,15	0,74	0,97	0,02

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Camphen, 3:  $\beta$ -Pinen, 4:  $\Delta^3$ -Caren, 5: Myrcen, 6: Limonen, 7:  $\beta$ -Phellandren, 8: p-Cymen, 9: Terpinolen, 10: Bornylacetat, 11:  $\beta$ -Caryophyllen, 12: Terpinylacetat; n.n. nicht nachweisbar.

Da das DAB 2001 in seiner Definition von Kiefernadelöl auch „andere Arten der Gattung *Pinus*“ zuläßt, wurden entsprechende Handelsöle untersucht (**Tab. 3**). In dem Meereskiefernöl (*P. pinaster*) **K19** konnte kein  $\Delta^3$ -Caren nachgewiesen werden, dagegen wurden auffallend hohe Werte für  $\alpha$ -Pinen gefunden. Das Meereskiefernöl K18 weist neben einem hohen  $\alpha$ -Pinen-Gehalt auch hohe Werte für  $\beta$ -Pinen auf. Der Vergleich mit früheren Ergebnissen [40] zeigt, daß  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen den Hauptanteil in Meereskiefernölen ausmachen und daß  $\Delta^3$ -Caren nur eine untergeordnete Rolle spielt. Auch bei dem Lariciokiefernöl (*P. laricio*) **K17** ergaben die Analysen einen erhöhten  $\alpha$ -Pinen-Gehalt und gleichzeitig einen sehr geringen Wert für  $\Delta^3$ -Caren. Das Zirbelkieferöl (*P. cembra*) **K16** enthält ebenfalls geringe Mengen an  $\Delta^3$ -Caren und zusätzlich auffallend wenig  $\beta$ -Caryophyllen, dagegen fällt der hohe Gehalt an Limonen auf, der für Kiefernadelöl untypisch ist. Das Zirbelkieferöl **K15** weist mit 6 % einen unnatürlich hohen p-Cymen-Gehalt auf, der von einem überlagerten Öl zeugt.

#### 1.1.1.3 Chirale GC-Untersuchung von Kiefernadelöl

Erste Untersuchungen der Arbeitsgruppe Mosandl lassen charakteristische Enantiomerenverteilungen von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen und Limonen in Kiefernadelölen vermuten [41]. Bestenfalls könnte diese Untersuchung die Unterscheidung von Kiefernadelölen und Latschenkiefernölen und zusätzlich eine Abgrenzung der beiden gegen Fichtennadelöl ermöglichen. Die bisherigen Ergebnisse auf diesem Gebiet reichen noch nicht für definitive Aussagen aus, deshalb wurden Untersuchungen von Kiefernadelöl-Handelsproben durchgeführt.



Es wurde eine 50 m Säule mit einem ID von 0,25 mm und einer df von 0,25  $\mu$ m eines  $\beta$ -Cyclodextrinderivats verwendet. Das Cyclodextrinderivat trägt an den OH-Gruppen in Position 2 und 6 Methylreste und an Position 3 einen Pentylrest (*Säule G*). Als Trägergas wurde Stickstoff mit einer Durchflußrate von 1 ml/min und ein Splitverhältnis von 1:100 eingesetzt. Die Temperatur des Probeneinlasses wird bei 210 °C gehalten, die des Detektors bei 220 °C. Die Temperatur der Säule wird 15 min lang bei 90 °C gehalten, dann um 5 °C je Minute auf 220 °C erhöht und 220 °C werden 4 min lang gehalten.

**Tabelle 4:** Enantiomerenverteilung von  $\alpha$ -Pinen und Limonen in Kiefernadelölen des Handels  
GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (*Säule G*)

Handelsöl Int. Ch.	(-)- $\alpha$ -Pinen : (+)- $\alpha$ -Pinen	(-)-Limonen : (+)-Limonen
<b>K1</b>	12,7 : 87,3	57,8 : 42,2
<b>K3</b>	45,9 : 54,1	4,5 : 95,5
<b>K5</b>	34,9 : 65,1	9,3 : 90,7
<b>K6</b>	59,6 : 40,4	7,6 : 92,4
<b>K7</b>	40,9 : 59,1	10,0 : 90,0
<b>K8</b>	61,8 : 38,2	5,4 : 94,6
<b>K9</b>	32,2 : 67,8	6,6 : 93,4
<b>K12</b>	35,0 : 65,0	6,5 : 93,5

**Tabelle 5:** Enantiomerenverteilung von  $\alpha$ -Pinen und Limonen in selbst destillierten Kiefernadelölen  
GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (*Säule G*)

Destilliertes Öl Int. Ch.	(-)- $\alpha$ -Pinen : (+)- $\alpha$ -Pinen	(-)-Limonen : (+)-Limonen
<b>K13</b>	18,4 : 81,6	53,1 : 46,9
<b>K14</b>	25,7 : 74,3	85,1 : 14,9

Bei den Enantiomeren von  $\alpha$ -Pinen ist weder beim Vergleich der Handelsöle untereinander (**Tab. 4**), noch mit den selbst destillierten Ölen (**Tab. 5**) ein klares Verteilungsschema erkennbar. Es liegt ein Racemat mit wechselndem Überschuß von (-)- oder (+)- $\alpha$ -Pinen vor. Beim Limonen überwiegt bei den Handelsölen mit Ausnahme von **K1** deutlich das (+)-Enantiomer. Das Öl **K13**, das nur aus Nadeln von *P. sylvestris* gewonnen wurde, weist das Racemat von Limonen auf. Im Öl **K14** überwiegt hingegen das (-)-Enantiomer, obwohl das ätherische Öl aus der gleichen Pflanze wie **K13** gewonnen wurde, jedoch aus Zweigen mit Nadeln. Es kann also auch beim Limonen keine definierte Enantiomerenverteilung festgestellt werden. Da im vorliegenden Fall jedoch fast ausschließlich Handelsöle untersucht wurden, deren Authentizität nicht gesichert ist, können nur weitere Untersuchungen an authentischem

Drogenmaterial endgültig Aufschluß über die wirkliche Enantiomerenverteilung von  $\alpha$ -Pinen und Limonen geben. Nach den vorliegenden Ergebnissen, liefert die chirale GC-Untersuchung von Kiefernadelölen keine Vorteile gegenüber der achiralen.

#### ***1.1.1.4 Reinheitsprüfung von Kiefernadelöl - Bestimmung der Peroxidzahl***

Kiefernadel- und Latschenkiefernöle sind anfällig für Zersetzungsreaktionen wie Autoxidation und Verharzung [36]. Die Bestimmung der Peroxidzahl (POZ) bietet eine Möglichkeit, das Fortschreiten oxidativer Vorgänge zu kontrollieren. Lt. Definition der Ph. Eur. gibt die POZ die Peroxidmenge in Milliäquivalenten aktiven Sauerstoff an, die in 1000 g Substanz, gemäß Ph.-Eur.-Methode bestimmt, enthalten ist. Die Bestimmung der POZ ist bis dato noch nicht in der Kiefernadelöl-Monographie enthalten, sollte jedoch in die Reinheitsprüfungen eingeschlossen werden, da dadurch überlagerte Ölproben erkannt werden.

Die POZ einiger Handelsöle wurde gemäß der Gehaltsbestimmungsmethode Peroxidzahl (2.5.5) Methode A der Ph. Eur. NT 2001 bestimmt. Dabei werden 5,00 g Substanz mit 30 ml einer Mischung von 2 VT Chloroform *R* und 3 VT Essigsäure 98 % *R* versetzt und unter Umschütteln gelöst. Die Lösung wird nach Zusatz von 0,5 ml gesättigter Kaliumiodid-Lösung *R* während 60 sec. geschüttelt, mit 30 ml Wasser *R* versetzt und langsam unter ständigem kräftigem Umschütteln mit Natriumthiosulfat-Lösung (0,01 mol/l) titriert, bis die Gelbfärbung fast verschwunden ist. Nach Zusatz von 5 ml Stärke-Lösung *R* wird die Titration unter kräftigem Umschütteln bis zum Verschwinden der Blaufärbung fortgesetzt ( $n_1$  ml Natriumthiosulfat-Lösung (0,01 mol/l)). Unter gleichen Bedingungen wird ein Blindversuch durchgeführt ( $n_2$  ml Natriumthiosulfat-Lösung (0,01 mol/l)). Hierfür dürfen höchstens 0,1 ml Natriumthiosulfat-Lösung (0,01 mol/l) verbraucht werden.

$$POZ = \frac{10 \cdot (n_1 - n_2)}{m}$$

$m$  = Einwaage der Substanz in Gramm

**Tabelle 6:** Peroxidzahlbestimmung nach Ph. Eur. NT 2001 von Kiefernadel- und Latschenkiefernölen des Handels

Handelsöl Int. Ch.	POZ
<b>K9</b>	10,2
<b>K7</b>	23,8
<b>K1</b>	25,6
<b>K6</b>	33,4
<b>K12</b>	37,3
<b>K8</b>	86,8
<b>LK1</b>	0,4
<b>LK10</b>	0,4
<b>LK6</b>	2,7
<b>LK11</b>	5,2
<b>LK14</b>	6,9
<b>LK20</b>	7,1

Die POZ von Coniferenölen sollte in der Regel unter 20,0 liegen.

Die POZ der Kiefernadelöle fällt deutlich höher aus, als die der Latschenkiefernöle. Nur die Probe **K9** liefert einen akzeptablen Wert von 10,2, die POZ der übrigen getesteten Proben liegt über dem zulässigen Wert von 20.

Die getesteten Latschenkiefernöle weisen durchwegs eine niedrige POZ auf. Die Probe **LK10** enthält Tocopherol als Antioxidans und weist einen deutlich geringeren Wert auf als **LK11**, das gleiche Öl ohne Tocopherol.

Die Ph. Helv. VIII legt in der Monographie „Latschenöl“ fest, daß das ätherische Öl „mit einem geeigneten Antioxydans“ konserviert werden muß [7]. Da es bislang keine deutsche Monographie für Latschenkiefernöl gibt, ist es möglich, daß sich einige Hersteller an die Monographie der Ph. Helv. halten und Antioxidantien zusetzen, ohne in der Deklaration des Öls darauf hinzuweisen. Dies könnte die niedrigen Peroxidzahlen der Latschenkiefernöle erklären. Der Zusatz eines Antioxidans ist zwar sinnvoll, wird jedoch im DAB nicht erlaubt, da hier nur naturbelassene ätherische Öle zugelassen sind.

### 1.1.2 Latschenkiefernöl

Latschenkiefernöl, *Pini pumilionis aetheroleum*, ist das durch Wasserdampfdestillation aus den frischen Nadeln, Zweigspitzen und Ästen von *Pinus mugo* TURRA (*P. montana* MILLER var. *pumilio*) gewonnene ätherische Öl. Es handelt sich um eine klare, farblose bis schwach gelbe Flüssigkeit von terpenartigem Geruch.

Der Preis von natürlichem Latschenkiefernöl liegt bei etwa 55 €/kg und ist damit etwa dreimal so hoch wie der von Kiefernadelöl, Fichtennadelöl und naturidentischem Latschenkiefernöl. Koreanisches Abiesöl wird sogar für nur ein Fünftel des Preises von Latschenkiefernöl gehandelt. Vergleicht man die pharmakologischen Wirkungen von Latschenkiefern-, Kiefernadel- und Fichtennadelöl, so lassen sich keine wesentlichen Unterschiede feststellen [5]. Alle drei ätherischen Öle werden in den bereits bei Kiefernadelöl erwähnten Indikationen eingesetzt. Darüber hinaus ist Latschenkiefernöl in vielen kosmetischen Produkten wie Hand- und Fußcremes, Duschbädern, Seifen und Massageölen enthalten. Wegen des hohen Preisniveaus wäre für die Industrie eine Differenzierung zwischen Kiefernadel- und Latschenkiefernöl von Bedeutung.

Eine verlässliche Methode zur Überprüfung der Authentizität von Latschenkiefernöl ist wünschenswert. Wegen des hohen Preises findet man häufig Verfälschungen mit Limonen oder mit Terpentinöl. Weitere Verschnittmöglichkeiten bieten sich mit anderen Pinusölen sowie mit Abies- und Piceaölen [32].

Die qualitative Zusammensetzung von Latschenkiefernöl stimmt mit dem Inhaltsstoffspektrum von Kiefernadelöl größtenteils überein. Die Hauptbestandteile sind die Monoterpene  $\alpha$ -Pinen,  $\beta$ -Pinen und Limonen, zusätzlich werden häufig höhere Anteile an  $\beta$ -Phellandren gefunden [32,33]. Die quantitative Zusammensetzung der Monoterpenkohlenwasserstoffe, der Terpenalkohole und -ester sowie der Sesquiterpene variiert wie bei Kiefernadelöl [42].

### **1.1.2.1 DC-Untersuchung von Latschenkiefernöl**

Die DC-Untersuchung von Latschenkiefernölen wurde analog zu Kiefernadelölen durchgeführt. Die Ergebnisse sind unter Punkt **3.1.1.1** dargestellt. Eine Unterscheidung von Kiefernadelöl und Latschenkiefernöl ist mittels DC nicht möglich. Aufgrund des vergleichbaren Inhaltsstoffspektrums erhält man sehr ähnliche DCs.

### **1.1.2.2 Achirale GC-Untersuchung von Latschenkiefernöl**

Bisher ist Latschenkiefernöl in die DAB-Monographie „Kiefernadelöl“ mit eingeschlossen. Die Ph. Helv. VIII enthält eine Monographie „*Pini pumilionis aetheroleum* - Latschenöl“, ebenso bezieht sich die Monographie „Pine Needle Oil“ der BP auf Latschenkiefernöl von *P. mugo* und die Varietät *pumilio*. In keiner Monographie ist eine GC-Methode zur Prüfung auf Identität und Reinheit sowie zur Gehaltsbestimmung ausgewählter Komponenten enthalten.

Die achirale GC-Untersuchung der Latschenkiefernöle wurde analog zu Kiefernadelöl auf einer mit Macrogol 20 000 *R* belegten Säule durchgeführt. Die Konditionen der Bestimmung wurden im Abschnitt **3.1.1.2** detailliert angeführt.

Die Proben **LK1** bis **LK3** enthalten auffallend wenig  $\Delta^3$ -Caren, gleichzeitig treten mehr oder weniger deutlich ausgeprägt erhöhte Limonen-Werte auf (**Tab. 7**). Die Ursache dafür ist vermutlich eine andere chemische Rasse der ätherisch-Öl-liefernden Pflanzen. Bei der Probe **LK2** besteht jedoch der Verdacht, daß Limonen zugesetzt wurde, ebenso wie Terpinolen, das auch einen unnatürlich hohen Wert aufweist. Auch die Proben **LK5**, **LK8** bis **LK11** und **LK20** liefern höhere Werte für Limonen, sie liegen aber noch im Toleranzbereich für natürliche Latschenkiefernöle [32,33]. **LK1** weist einen leicht erhöhten  $\alpha$ -Pinen-Gehalt auf, dagegen ist der Anteil in der Probe **LK20** mit 0,5 % deutlich zu niedrig. **LK20** enthält zusätzlich überdurchschnittlich viel  $\beta$ -Pinen. Zieht man auch den erhöhten Limonen-Gehalt in Betracht, liegt eine Manipulation des Handelsöls nahe. Auch die Proben **LK9** und **LK16** wurden vermutlich durch den Zusatz von Terpinolen verfälscht, da die Werte deutlich über dem Durchschnitt liegen und damit auch von Literaturwerten abweichen [32,33,36].

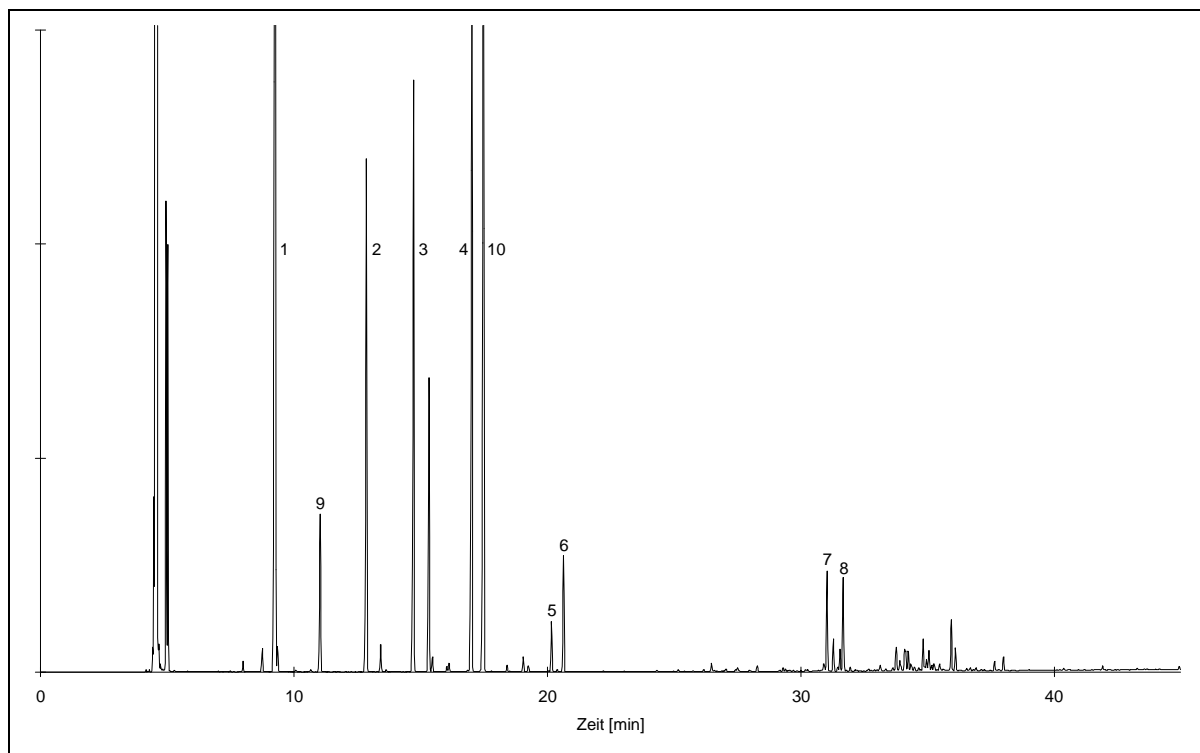
**Tabelle 7:** Zusammensetzung verschiedener Latschenkiefernöle des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
LK1	46,88	1,43	8,57	1,04	1,43	16,42	16,06	0,16	0,26	0,49	0,37	0,18
LK2	18,22	2,83	2,43	1,32	0,67	37,20	3,04	1,09	11,86	5,22	2,37	n.n.
LK3	45,63	2,31	10,50	1,45	1,56	12,95	17,36	0,29	0,45	0,51	0,41	0,12
LK4	35,96	7,75	11,74	6,94	1,04	2,17	13,85	0,46	0,70	6,60	2,29	0,08
LK5	21,71	2,83	5,39	9,57	0,32	20,80	0,06	2,57	n.n.	3,50	n.n.	0,38
LK6	33,12	2,55	9,09	11,02	4,71	11,17	14,18	0,66	1,70	1,44	1,47	0,19
LK7	30,94	3,34	8,24	11,76	0,25	9,38	0,13	2,01	n.n.	1,94	0,04	0,40
LK8	25,95	1,43	8,26	15,84	8,88	13,27	10,77	1,12	3,00	1,54	2,27	0,05
LK9	18,42	5,81	14,57	15,91	0,66	15,31	4,54	0,44	14,10	3,89	1,01	n.n.
LK10	25,02	1,71	7,07	19,16	7,64	18,08	4,34	0,80	4,10	3,51	2,30	0,25
LK11	25,21	1,72	7,12	19,30	7,72	18,18	4,38	0,80	4,14	3,53	2,31	0,14
LK12	22,45	1,74	7,47	19,97	9,91	8,63	12,76	0,67	2,64	1,82	2,90	0,50
LK13	20,97	1,74	6,50	20,08	6,77	12,38	10,96	1,22	4,31	1,76	2,54	0,06
LK14	26,62	2,41	10,57	20,60	4,16	9,27	4,53	1,48	1,76	6,42	3,72	0,06
LK15	22,56	2,06	7,11	21,00	9,45	8,77	12,76	2,42	2,50	2,01	1,66	0,16
LK16	8,15	2,94	25,38	23,33	7,29	6,22	2,78	0,30	12,56	3,54	0,80	0,03
LK17	14,09	1,31	5,91	27,99	10,14	6,34	15,14	0,53	2,61	1,57	3,01	0,19
LK18	15,39	2,12	7,54	35,31	4,72	4,09	14,86	0,93	2,97	1,46	2,75	0,25
LK19	30,64	1,78	5,44	36,25	3,68	5,25	1,49	0,71	3,41	1,18	1,79	0,37
LK20	0,51	3,91	27,45	38,24	0,75	16,66	0,22	0,61	3,56	3,53	1,17	n.n.
<b>MW</b>	<b>24,42</b>	<b>2,69</b>	<b>9,82</b>	<b>17,80</b>	<b>4,59</b>	<b>12,63</b>	<b>8,21</b>	<b>0,96</b>	<b>3,83</b>	<b>2,77</b>	<b>1,76</b>	<b>0,17</b>
LK21	35,96	2,53	13,12	20,82	1,01	7,25	0,37	2,14	1,05	5,50	2,91	0,32
LK22	23,33	2,89	14,67	34,41	1,03	13,94	0,58	0,82	0,78	2,71	0,82	0,07

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Camphen, 3:  $\beta$ -Pinen, 4:  $\Delta^3$ -Caren, 5: Myrcen, 6: Limonen, 7:  $\beta$ -Phellandren, 8: p-Cymen, 9: Terpinolen, 10: Bornylacetat, 11:  $\beta$ -Caryophyllen, 12: Terpinylacetat; n.n. nicht nachweisbar.

Der p-Cymen-Gehalt ist in den Proben **LK5**, **LK7** und **LK13** bis **LK15** erhöht. Es handelt sich um überlagerte Öle. Ein weiteres Indiz für überlagertes Latschenkiefernöl, der niedrige  $\beta$ -Caryophyllen-Gehalt, ist in den Proben **LK1**, **LK3**, **LK5**, **LK7** und **LK16** zu finden. Ohne Beanstandung bleiben somit nur die Proben **LK4**, **LK6** (**Abb. 5**), **LK12** und **LK17** bis **LK19**.

**Abb. 5** Typisches Gaschromatogramm eines Latschenkiefernöls (**LK6**), aufgezeichnet auf einer Macrologol-Säule 60 m (Säule B)



Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2:  $\beta$ -Pinen, 3:  $\Delta^3$ -Caren, 4: Limonen, 5: p-Cymen, 6: Terpinolen, 7: Bornylacetat, 8:  $\beta$ -Caryophyllen, 9: Camphen, 10:  $\beta$ -Phellandren.

Die selbst destillierten Latschenkiefernöle liefern für alle untersuchten Inhaltsstoffe sehr gute Ergebnisse (**Tab. 8**), da sie mit den Literaturwerten für Latschenkiefernöle übereinstimmen [32,33,36]. Da es sich um frisch destillierte Öle handelt, ist der p-Cymen-Gehalt niedrig und liegt deutlich unter dem Durchschnittswert der Handelsöle; der  $\beta$ -Caryophyllen-Gehalt ist dagegen verhältnismäßig hoch und liegt deutlich über dem Durchschnittswert der Handelsöle.

**Tabelle 8:** Zusammensetzung selbst destillierter Latschenkiefernöle  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>LK23</b>	25,53	3,78	2,69	16,25	2,47	1,15	2,66	0,05	2,11	5,74	4,80	0,52
<b>LK24</b>	23,85	2,22	2,12	26,55	2,26	0,64	8,28	0,10	2,83	2,68	5,42	0,82
<b>LK25</b>	13,64	1,28	15,84	18,74	3,32	8,46	6,88	0,05	5,84	1,51	4,61	1,72

1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Camphen, 3:  $\beta$ -Pinen, 4:  $\Delta^3$ -Caren, 5: Myrcen, 6: Limonen, 7:  $\beta$ -Phellandren, 8: p-Cymen, 9: Terpinolen, 10: Bornylacetat, 11:  $\beta$ -Caryophyllen, 12: Terpinylacetat.

Vergleicht man die quantitative Zusammensetzung von Kiefernadelöl mit der von Latschenkiefernöl, so können keine gravierenden Unterschiede festgestellt werden. Im Durchschnitt werden in Kiefernadelölen höhere Werte für  $\alpha$ -Pinen und  $\beta$ -Pinen gefunden, dagegen sind in Latschenkiefernölen höhere Durchschnittswerte für  $\Delta^3$ -Caren und  $\beta$ -Phellandren feststellbar. Diese relativ geringen Unterschiede rechtfertigen keine eigenständige Latschenkiefernöl-Monographie, da die Grenzwerte aufgrund der starken biologischen Schwankungen sehr weit gewählt werden müssen. Somit wird eine analytisch begründbare Differenzierung zwischen beiden Ölen praktisch unmöglich.

### 1.1.2.3 Chirale GC-Untersuchung von Latschenkiefernöl

Die chirale Untersuchung von Latschenkiefernölen wurde analog zu Kiefernadelölen wie in 3.1.1.3 beschrieben auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (50 m) durchgeführt. Spezielle Muster bei der Enantiomerenverteilung von  $\alpha$ -Pinen und Limonen sollten aufgedeckt werden, um das Erkennen von Verfälschungen zu erleichtern.

$\alpha$ -Pinen kommt in Latschenkiefernölen als Racemat mit wechselndem Überschuß beider Enantiomere vor (**Tab. 9**). Es kann kein System bei der Verteilung der (+)- und (-)-Enantiomeren von  $\alpha$ -Pinen festgestellt werden. Bei den Proben **LK1**, **LK6**, **LK16** und **LK20** überwiegt deutlich das (-)-Enantiomer von Limonen, bei den übrigen Proben hingegen liegt, wie im Falle von  $\alpha$ -Pinen, das Racemat von Limonen mit wechselndem Überschuß vor.



**Tabelle 9:** Enantiomerenverteilung von  $\alpha$ -Pinen und Limonen in Latschenkiefernölen des Handels  
GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule G)

Handelsöl Int. Ch.	(-)- $\alpha$ -Pinen : (+)- $\alpha$ -Pinen	(-)-Limonen : (+)-Limonen
LK1	19,3 : 80,7	96,6 : 3,4
LK2	70,4 : 29,6	57,8 : 42,2
LK6	34,8 : 65,2	92,9 : 7,1
LK9	63,6 : 36,4	66,1 : 33,9
LK11	72,7 : 27,3	62,7 : 37,3
LK12	58,4 : 41,6	72,9 : 27,1
LK14	56,1 : 43,9	44,7 : 55,3
LK15	66,1 : 33,9	66,2 : 33,8
LK16	61,3 : 38,7	86,3 : 13,7
LK19	35,4 : 64,6	45,1 : 54,9
LK20	45,2 : 54,8	80,4 : 19,6
LK22	86,2 : 13,8	69,3 : 30,7

Die selbst destillierten Latschenkiefernöle liefern im Prinzip das gleiche Ergebnis, auch hier finden sich Racemate mit wechselndem Überschuß (**Tab. 10**). Obwohl die Proben **LK23** und **LK24** aus der gleichen Pflanze, jedoch aus unterschiedlichen Pflanzenteilen gewonnen wurden, können bei der Enantiomerenverteilung von Limonen erhebliche Unterschiede festgestellt werden.

**Tabelle 10:** Enantiomerenverteilung von  $\alpha$ -Pinen und Limonen in selbst destillierten Latschenkiefernölen;  
GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule G)

Destilliertes Öl Int. Ch.	(-)- $\alpha$ -Pinen : (+)- $\alpha$ -Pinen	(-)-Limonen : (+)-Limonen
LK23	33,2 : 66,8	26,3 : 73,7
LK24	27,8 : 72,2	57,4 : 42,6
LK25	66,1 : 33,9	79,8 : 20,2

Analog zu den Untersuchungen an Kiefernadelölen zeigte sich auch bei Latschenkiefernölen daß sich die Enantiomerenverteilung von  $\alpha$ -Pinen und Limonen nicht zum Nachweis der Authentizität eignet. Verfälschungen mit anderen Coniferenölen oder rac. Limonen können auf diese Weise nicht detektiert werden.

### 1.1.3 Diskussion der Monographie-Änderung

Für die Prüfung auf Identität mittels DC wurde für den Änderungsentwurf der Kiefernadelöl-Monographie als Fließmittel eine Mischung aus 95 VT Toluol *R* und 5 VT Ethylacetat *R* gewählt. Dadurch entfällt die Verwendung des hepatotoxischen Dichlormethans. Die Zusammensetzung der Referenzlösung wurde insofern abgeändert, dass zusätzlich Caryophyllenoxid enthalten ist. Sie setzt sich aus 40 µl Bornylacetat *R*, 5 mg Borneol *R* und 20 mg Caryophyllenoxid *R* zusammen. Die Intensität der Bornylacetat-Bande sowie das Fehlen der Borneol-Bande erlauben die Abgrenzung zum Fichtennadelöl. Die Bande des Caryophyllenoxids bietet eine Kontrollmöglichkeit für den oxidativen Abbau von  $\beta$ -Caryophyllen in Kiefernadelölen.

Das „Chromatographische Profil“ sollte auf einer 60 m langen Säule, belegt mit Macrogol 20000 *R* und einem ID von 0,25 mm erstellt werden. Durch die Verwendung einer chiralen Säule ist keine Verbesserung der Qualitätsbeurteilung möglich. Für  $\alpha$ -Pinen wurde eine Spanne von 8,0 bis 45,0 % gewählt. Höhere  $\alpha$ -Pinen-Gehalte können durch den Zusatz von Terpinenol verursacht werden. Der Gehalt an  $\beta$ -Pinen liegt unter dem von  $\alpha$ -Pinen, er sollte zwischen 2,0 und 25,0 % betragen.  $\Delta^3$ -Caren ist ein typischer Bestandteil von Kiefernadelölen, in Fichtennadelölen findet man deutlich weniger davon. Das DAB 2001 fordert für Fichtennadelöl einen Bereich von 1,0 bis 15,0 %, dagegen sollten in Kiefernadelöl 5,0 bis 40,0 % enthalten sein. Der Anteil an Limonen hingegen ist in Fichtennadelölen höher als in Kiefernadelölen. Fichtennadelöle müssen 4,0 bis 30,0 % Limonen aufweisen, Kiefernadelöle nicht mehr als 12,0 %. Werden höhere Gehalte gefunden, kann einerseits zugesetztes Fichtennadelöl die Ursache sein, es wäre aber auch der Zusatz von synthetischem *rac.* Limonen denkbar. In authentischen Kiefernadelölen werden nicht mehr als 6,0 % Terpinolen gefunden. Gehalte über 6 % sind untypisch und sind auf Zusätze von Terpinolen zurückzuführen. Bornylacetat ist ein charakteristischer Bestandteil von Kiefernadelöl, jedoch sollten nicht mehr als 8,0 % enthalten sein. Durch diese Komponente ist eine deutliche Abgrenzung zu Fichtennadelöl möglich, das 5,0 bis 35,0 % Bornylacetat enthalten muß. *p*-Cymen ist ein hervorragender Indikator für überlagertes Öl. Unter dem Einfluß von Licht und/oder Luftsauerstoff wird es über Peroxidstufen aus  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Terpinen und Terpinolen gebildet. Qualitativ hochwertiges Kiefernadelöl darf höchstens 1,0 % *p*-Cymen aufweisen. Im Gegensatz dazu nimmt in überlagerten Ölen der Gehalt an  $\beta$ -Caryophyllen, unter Bildung von

Caryophyllenoxid, ab. Deswegen sollten mindestens 1,0 %  $\beta$ -Caryophyllen in Kiefernadelölen enthalten sein. Die Obergrenze wurde auf 7,0 % festgelegt, da in authentischen Ölen selten darüber hinausgehende Werte gefunden werden.

Durch die Fixierung der Grenzwerte ist eine Charakterisierung von Kiefernadelölen möglich. Sie gewährleisten die Unterscheidung von anderen Coniferenölen und erlauben auch in gewissem Rahmen die Detektion von zugesetzten synthetischen Substanzen. Da die Einzelkomponenten in Kiefernadelölen und in Latschenkiefernölen starke natürliche Schwankungen aufweisen, ist es praktisch nicht möglich, durch GC-Untersuchung der ätherischen Öle die beiden Arten zu unterscheiden.

## 1.2 Ätherische Öle der Apiaceae

Bei den Doldengewächsen (Apiaceae) handelt es sich in der Regel um krautige Pflanzen, die in gemäßigten Klimazonen beheimatet sind. Als gemeinsame Merkmale haben die meisten Gattungen der Apiaceen wechselständige, gefiederte Blätter, die Blüten sind Doppeldolden mit sog. Hüllen als Tragblätter. Das ätherische Öl der Doldengewächse ist in schizogenen Exkretgängen der charakteristischen Spaltfrüchte enthalten. Als Reservestoffe werden in den Früchten fettes Öl und Aleuronkörner gespeichert. Auch die vegetativen Teile der Pflanzen enthalten ätherisches Öl, werden jedoch zu dessen Gewinnung nur selten herangezogen. Das Kraut wird häufig als Gewürz verwendet, einige Wurzeln in getrocknetem Zustand als Drogen. Als Beispiele sind neben Fenchel und Koriander Anis, Kümmel, Dill, Petersilie und Liebstöckel zu nennen [28,29].

### Ätherische Öle des Fenchels

Fenchel ist ein ein-, zwei- oder mehrjähriges Kraut. Zur Gattung *Foeniculum vulgare* MILLER gehören zwei Unterarten, die ssp. *piperitum* (UCRIA) COUTINHO und die ssp. *vulgare* (syn. *capillaceum* (GILIB.) HOLOMBOE). Während erstere wild vorkommt und den sog. Pfeffer- oder Eselsfenchel liefert, der gelegentlich als scharf schmeckendes Gewürz genutzt wird, ist der kultivierte Gartenfenchel eine häufig genutzte Arznei-, Gewürz und Gemüsepflanze, die in drei Varietäten unterteilt werden kann. Zum einen die kultiviert und wild vorkommende var. *vulgare* (MILLER) THELLUNG, der Bitterfenchel, dessen Früchte einen bitteren Nachgeschmack durch das enthaltene Fenchon haben und zur Gewinnung von Fenchelöl herangezogen werden. Daneben die var. *dulce* (MILLER) THELLUNG, der Süßfenchel, aus dessen Früchten ebenfalls ätherisches Öl gewonnen wird, das aufgrund des hohen Anethol-Anteils angenehm süß schmeckt. Laut KRÜGER ET AL. ist die Unterscheidung zwischen Bitter- und Süßfenchel nicht so einfach, da die Grenze zwischen hohem und niedrigem Fenchon-Gehalt verwischt ist [43]. Die dritte Varietät, var. *azoricum* (MILLER) THELLUNG, wird wegen ihrer fleischigen Blätter kultiviert, die als Salat oder Gemüse gegessen werden [44]. Der Hauptanteil der ätherischen Öle wird durch Phenylpropane bestimmt, daneben treten Monoterpene auf, Sesquiterpene sind nur in Spuren vorhanden.

Bitterfenchelöl spielt im Vergleich zu Süßfenchelöl, das vor allem in der Lebensmittel-industrie eingesetzt wird, eine wichtige Rolle in der Phytotherapie. Die Kommission E empfiehlt Bitterfenchelöl wegen der spasmolytischen und motilitätsfördernden Wirkung, zur Therapie dyspeptischer Beschwerden, des weiteren zur Therapie katarrhalischer Infekte der Atemwege, häufig in Form von Fenchelhonig [30]. Fenchelöl wird vorzugsweise in der Pädiatrie verwendet, eine gewisse Vorsicht ist jedoch bei Kleinkindern geboten, da gerade bis zum 2. Lebensjahr durch Fenchon allergische Reaktionen ausgelöst werden können [46].

### 1.2.1 Bitteres Fenchelöl

Bitteres Fenchelöl ist das durch Wasserdampfdestillation aus den reifen, trockenen Früchten von *Foeniculum vulgare* MILLER ssp. *vulgare* var. *vulgare* (MILLER) THELLUNG gewonnene ätherische Öl. Es handelt sich um eine farblose bis schwach gelbliche Flüssigkeit von erst süßem, anisartigem, dann bitterem, campherartigem Geschmack [45].

Die Hauptinhaltsstoffe des bitteren Fenchelöls sind Phenylpropanderivate, mit *trans*-Anethol-Anteilen von 60 bis 70 % und das bitykliche Monoterpen Fenchon mit etwa 15 bis 25 %. Daneben kommen Limonen und  $\alpha$ -Pinen als weitere typische Komponenten vor. Diese beiden Terpenkohlenwasserstoffe erleichtern die Unterscheidung zwischen bitterem und süßem Fenchelöl, da bei bitterem das Verhältnis  $\alpha$ -Pinen : Limonen größer 1 ist, bei Süßfenchelöl liegt das Verhältnis dagegen auf der Seite des Limonens [46]. Der Gehalt an Estragol (syn. Methylchavicol) kann in manchen Chemotypen bis zu 40 % betragen [47], für spanische Wildfenchelsorten wurden sogar Öle beschrieben, die Anteile von etwa 60 %, dagegen sehr wenig *trans*-Anethol aufweisen [48]. Aus toxikologischen Gründen sollten wirksame und unbedenkliche Fenchelöle nicht mehr als 5 % Estragol enthalten [49]. *Cis*-Anethol ist etwa 10-20 mal toxischer als *trans*-Anethol [46]. Sein Anteil in natürlichem Bitterfenchelöl ist mit maximal 0,3 % sehr gering. Hohe *cis*-Anethol-Gehalte sind zum einen als Folge unsachgemäßer Lagerung zu sehen, da es durch Umlagerung aus *trans*-Anethol gebildet werden kann [50]. Zum andern ist *cis*-Anethol bis zu 4 % in technischem *trans*-Anethol enthalten, das den Handelsfenchelölen häufig zugesetzt wird. Anisaldehyd ist ein Destillationsartefakt, das nicht genuin, aber im destillierten ätherischen Öl vorkommt. Der Vergleich eines CO<sub>2</sub>-Extraktes mit herkömmlicher Wasserdampfdestillation belegt dies, da im CO<sub>2</sub>-Extrakt nur Spuren von Anisaldehyd zu finden waren [51]. In überlagerten Fenchelölen ist

vermehrt Anisaldehyd zu finden, das neben anderen Verbindungen durch Autoxidation aus *trans*-Anethol gebildet wird [52]. UV-Licht, Wärme und Sauerstoff mindern die Qualität von Fenchelöl, *cis*-Anethol und Anisaldehyd können als Marker für gute Ölqualitäten verwendet werden. Weitere Inhaltsstoffe sind  $\beta$ -Pinen, Camphen,  $\alpha$ -Phellandren, p-Cymen, Myrcen und  $\gamma$ -Terpinen [43,47,48,50].

Als Verfälschung von bitterem Fenchelöl kommt zum einen der Zusatz von technischem Anethol in Betracht, aber auch von Zusätzen von Limonen,  $\alpha$ -Pinen und/oder  $\beta$ -Pinen oder Terpentinöl wurde berichtet [50]. Zum anderen wird auch Sternanisöl, das selbst Fenchon-frei ist, mit Fenchon gemischt als Fenchelöl angeboten und verkauft [46]. Daneben wurde von Handelsfenchelölen berichtet, die nur aus *cis*- und *trans*-Anethol, Fenchon, Estragol, Limonen und  $\alpha$ -Pinen zusammengesetzt waren und daher vermuten lassen, daß es sich um artifizielle Öle handelt [50]. Verwunderlich ist, daß trotz des relativ niedrigen Preisniveaus von etwa 25 €/kg [53], Verfälschungen von Fenchelölen beobachtet werden.

#### ***1.2.1.1 Gaschromatographische Untersuchung von bitterem Fenchelöl***

Bis zum Jahr 2000 enthielt das DAB eine Monographie „Fenchelöl“. Da als Stammpflanze *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* vorgeschrieben wurde, handelte es sich bei dieser Monographie um bitteres Fenchelöl. Unter „Prüfung auf Reinheit“ war kein chromatographisches Profil enthalten. Dieses sollte neu erstellt werden und dann zukünftig in der neuen Monographie für bitteres Fenchelöl erscheinen. Mit dieser GC-Methode sollte die Unterscheidung bitteres - süßes Fenchelöl möglich sein sowie der Ausschluß toxikologisch bedenklicher Wildfenchelöle, mit einem hohen Anteil von Estragol.

Die überarbeitete Monographie wurde im DAB 2001 unter dem neuen Titel „Bitteres Fenchelöl“ veröffentlicht [4].

In der Ph. Eur. 1997 sind Monographien für „Fenchel, bitter“ und „Fenchel, süß“ enthalten. Unter „Gehaltsbestimmung“ ist neben der Destillation auch eine GC-Untersuchung des erhaltenen ätherischen Öls zur Bestimmung der Komponenten Anethol und Fenchon vorgeschrieben. Bitterer Fenchel muß mindestens 60,0 % Anethol und mindestens 15,0 % Fenchon enthalten, süßer Fenchel mindestens 80,0 % Anethol. Zusätzlich wird bei der Prüfung

auf Reinheit der Estragol-Gehalt der Fenchelfrüchte mit der gleichen Methode bestimmt. Bitterer Fenchel darf höchstens 5,0 %, süßer Fenchel höchstens 10,0 % Estragol enthalten.

Für diese GC-Prüfung wird eine Kapillarsäule von 30 bis 60 m Länge und 0,3 mm ID, belegt mit Macrogol 20000, beschrieben. Als Trägergas wird gereinigter Stickstoff bei einer Durchflußrate von 0,40 ml/min und ein Splitverhältnis von 1:200 eingesetzt. Die Temperatur des Probeneinlasses wird bei 220 °C und die des Detektors bei 270 °C gehalten. Die Temperatur des Säulenofens wird 4 min lang bei 60 °C gehalten, dann mit einer Heizrate von 5 °C/min auf 170 °C erhöht und 15 min lang bei 170 °C gehalten. Jeweils 1 µl der Referenz- und der Untersuchungslösung werden nacheinander eingespritzt.

Verwendet man wie angegeben eine 60 m lange Kapillarsäule mit 0,25 mm ID, reicht die angegebene Zeit nicht zur Elution aller relevanten Komponenten. Wird dagegen eine 30 m lange Säule mit 0,32 mm ID mit dem angegebenen Temperaturprogramm eingesetzt, wird das zur Qualitätsbeurteilung bedeutende Anisaldehyd rechtzeitig eluiert, aber auch für die übrigen Komponenten kann eine gute Trennleistung erzielt werden. In den Monographie-Entwurf wurde deshalb die zweitgenannte Kapillarsäule aufgenommen.

**Tabelle 11** fasst die Ergebnisse der Untersuchung von bitteren und süßen Handelsölen zusammen, **Tabelle 12** die Ergebnisse von Fenchelfrüchten, die zur Extraktion des ätherischen Öls 2 h lang nach Ph. Eur. destilliert wurden.

**Tabelle 11:** Zusammensetzung bitterer und süßer Fenchelöle des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 30 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>F1</b>	3,37	0,27	0,99	0,41	3,11	0,82	0,82	16,61	3,17	0,46	67,34	1,16
<b>F2</b>	6,24	0,43	0,93	2,41	1,56	0,43	0,31	17,52	2,67	0,11	65,69	0,12
<b>F3</b>	1,69	0,24	1,00	1,59	8,29	0,11	0,46	7,46	1,39	0,11	73,97	1,86
<b>F4</b>	1,76	0,52	1,23	2,30	6,55	0,22	0,61	7,45	1,55	n.n.	73,66	1,87
<b>F5</b>	5,47	0,59	0,54	1,38	1,71	0,25	0,80	3,95	3,68	0,28	77,55	0,85
<b>F6</b>	3,04	0,18	0,44	0,87	4,26	0,42	0,20	3,55	6,87	0,20	74,74	0,41
<b>F7</b>	7,43	1,04	4,28	5,54	36,18	0,73	2,41	12,45	1,88	n.n.	25,79	0,19
<b>F8</b>	8,38	3,95	3,67	8,73	31,22	0,79	2,75	9,01	1,89	n.n.	23,99	0,09
<b>F9</b>	1,70	0,14	0,38	n.n.	30,59	n.n.	0,51	1,76	62,59	n.n.	0,47	0,23

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2:  $\beta$ -Pinen, 3: Myrcen, 4:  $\alpha$ -Phellandren, 5: Limonen, 6:  $\gamma$ -Terpinen, 7: p-Cymen, 8: Fenchon, 9: Estragol, 10: *cis*-Anethol, 11: *trans*-Anethol, 12: Anisaldehyd; n.n. nicht nachweisbar.

Bei keinem der Handelsöle in **Tab. 11** ist die verwendete Stammpflanze angegeben, es sind lediglich die Angaben „bitter“ oder „süß“ vorhanden. Die untersuchten Fenchelöle können nach ihren Inhaltsstoffen in folgende drei Gruppen unterteilt werden.

### Gruppe I

**F1**, obwohl als süßes Fenchelöl deklariert, und **F2** entsprechen einem bitteren Fenchelöl. Beide enthalten deutlich über 15 % Fenchon und zwischen 65 und 70 % Anethol. Das Verhältnis von  $\alpha$ -Pinen zu Limonen liegt bei **F1** geringfügig, bei **F2** deutlich auf der Seite des  $\alpha$ -Pinens. Der Estragol-Gehalt der beiden Fenchelöle ist deutlich unter 5,0 %, die Probe **F1** weist jedoch mit 0,46 % einen etwas erhöhten Wert für *cis*-Anethol auf.

### Gruppe II

Die Zusammensetzung der zweiten Gruppe **F3** bis **F6** ist typisch für süßes Fenchelöl. **F3** und **F4** sollten erwartungsgemäß Bitterfenchelöle sein, da sie als Fenchelöle „DAB 1997“ bzw. „DAB 1998“ deklariert waren. Der Fenchon-Gehalt dieser Proben ist mit 3,5 bis 7,5 % niedrig, der Anethol-Gehalt mit 73,6 bis 77,6 % dagegen hoch. Das Verhältnis  $\alpha$ -Pinen zu Limonen ist deutlich auf die Seite des Limonens verlagert, mit Ausnahme der Probe **F5**, bei der das  $\alpha$ -Pinen stark überwiegt. Die Mengen an *cis*-Anethol bewegen sich in einem akzeptablen Bereich. Der



Estragol-Gehalt der Probe **F6** ist auffallend hoch, während der Anteil an Anisaldehyd bei den Proben **F3** und **F4** mit 1,9 % höher als bei den übrigen Fenchelölen ist.

### Gruppe III

Die dritte Gruppe, **F7** bis **F9**, ist durch hohe Limonen-Anteile geprägt. Vermutlich handelt es sich hier um Wildvorkommen der ssp. *vulgare*. **F7** und **F8** enthalten deutlich mehr  $\alpha$ -Phellandren als die übrigen untersuchten Proben. Hohe Anteile an  $\alpha$ -Phellandren wurden für spanischen Fenchel beschrieben [54], auch für die oberirdischen Teile von italienischem Wildfenchel [55]. Dass die Fenchelölproben von der ssp. *piperitum* stammen kann ausgeschlossen werden, da diese Öle nur sehr geringe Mengen an Phenylpropanen enthalten, dafür Piperitenon und Piperitenonoxid [56].

**Tabelle 12:** Zusammensetzung selbst destillierter bitterer und süßer Fenchelöle  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 30 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Destilliertes Öl Int. Ch.	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>F10</b>	3,90	0,29	1,00	0,23	1,97	0,42	0,38	22,09	2,71	0,11	63,97	1,37
<b>F11</b>	5,55	0,26	1,03	0,28	3,12	0,50	0,41	25,81	2,00	n.n.	59,04	0,02
<b>F12</b>	1,54	0,37	0,58	0,82	7,50	0,24	0,64	7,44	2,78	0,08	75,82	0,09

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2:  $\beta$ -Pinen, 3: Myrcen, 4:  $\alpha$ -Phellandren, 5: Limonen, 6:  $\gamma$ -Terpinen, 7: p-Cymen, 8: Fenchon, 9: Estragol, 10: *cis*-Anethol, 11: *trans*-Anethol, 12: Anisaldehyd; n.n. nicht nachweisbar.

Frisch destillierte Fenchelöle aus Bitterfenchelfrüchten weisen den charakteristisch hohen Fenchon-Gehalt auf. Der Anethol-Anteil liegt bei 60 bis 65 % und damit deutlich niedriger als bei dem ätherischen Öl der Süßfenchelfrüchte. Das typische Verhältnis von  $\alpha$ -Pinen : Limonen kann bei allen drei destillierten Ölen festgestellt werden. Die Bitterfenchelfrüchte der Fa. Muggenburg waren zum Zeitpunkt der Destillation bereits etwa vier Jahre alt. Diese Tatsache dürfte jedoch die Qualität des ätherischen Öls nicht beeinflussen, da die Zusammensetzung des ätherischen Öls von ganzen Fenchelfrüchten auch über einen längeren Zeitraum sehr stabil ist [57].

### 1.2.1.2 Diskussion der Monographie-Änderung

Bei der Wahl der Grenzwerte für den Monographie-Entwurf für bitteres Fenchelöl wurde, wegen der niedrigen Probenzahl, neben den eigenen Ergebnissen verstärkt auf Literaturdaten zurückgegriffen. Für den Hauptbestandteil *trans*-Anethol sollten mindestens 55,0 und höchstens 75,0 % gefordert werden. Für den zweitwichtigsten Bestandteil Fenchon sollten mindestens 12,0 und höchstens 25,0 % gefordert werden. Die untere Grenze liegt somit um 3 % niedriger, als in der aktuellen Monographie „Bitterer Fenchel“ für das ätherische Öl gefordert wird. Der Wert basiert v. a. auf Literaturdaten [43,47]. Überschreiten die Werte für Fenchon 25 %, wird der typische Fenchelgeschmack durch den scharfen Fenchon-Geschmack verdrängt. Für  $\alpha$ -Pinen wurde ein Bereich von mindestens 2,0 und höchstens 8,0 %, für Limonen mindestens 1,0 und höchstens 5,0 % vorgeschlagen. Zusätzlich muß das Verhältnis  $\alpha$ -Pinen : Limonen größer 1 sein. Für Estragol wurde die Höchstgrenze bei 5,0 %, für *cis*-Anethol bei 0,3 % und für Anisaldehyd bei 2,0 % festgelegt.

Innerhalb dieser Grenzbereiche sollte somit ein für pharmazeutische Zwecke optimales bitteres Fenchelöl liegen. Bitteres Fenchelöl wird durch die festgelegten Grenzen klar definiert und somit durch GC-Untersuchung die Differenzierung zwischen bitterem und süßem Fenchelöl ermöglicht.

### 1.2.2 Süßes Fenchelöl

Süßes Fenchelöl ist das durch Wasserdampfdestillation aus den reifen, trockenen Früchten von *Foeniculum vulgare* MILLER ssp. *vulgare* var. *dulce* (MILLER) THELLUNG gewonnene ätherische Öl. Es handelt sich um eine farblose bis schwach gelbliche Flüssigkeit von süßem, anisartigem Geschmack.

Der wesentliche Unterschied zwischen bitterem und süßem Fenchelöl besteht in einem höheren *trans*-Anethol-Gehalt von 75 bis 87 %. In der Regel liegt der Fenchon-Anteil nur bei 0,5 bis 4 %, er kann aber bis zu etwa 11 % ausmachen [50]. Wie oben bereits erwähnt ist das Verhältnis von  $\alpha$ -Pinen zu Limonen ein weiteres Unterscheidungskriterium. Süßfenchelöl enthält deutlich mehr Limonen.

### 1.2.2.1 DC-Untersuchung

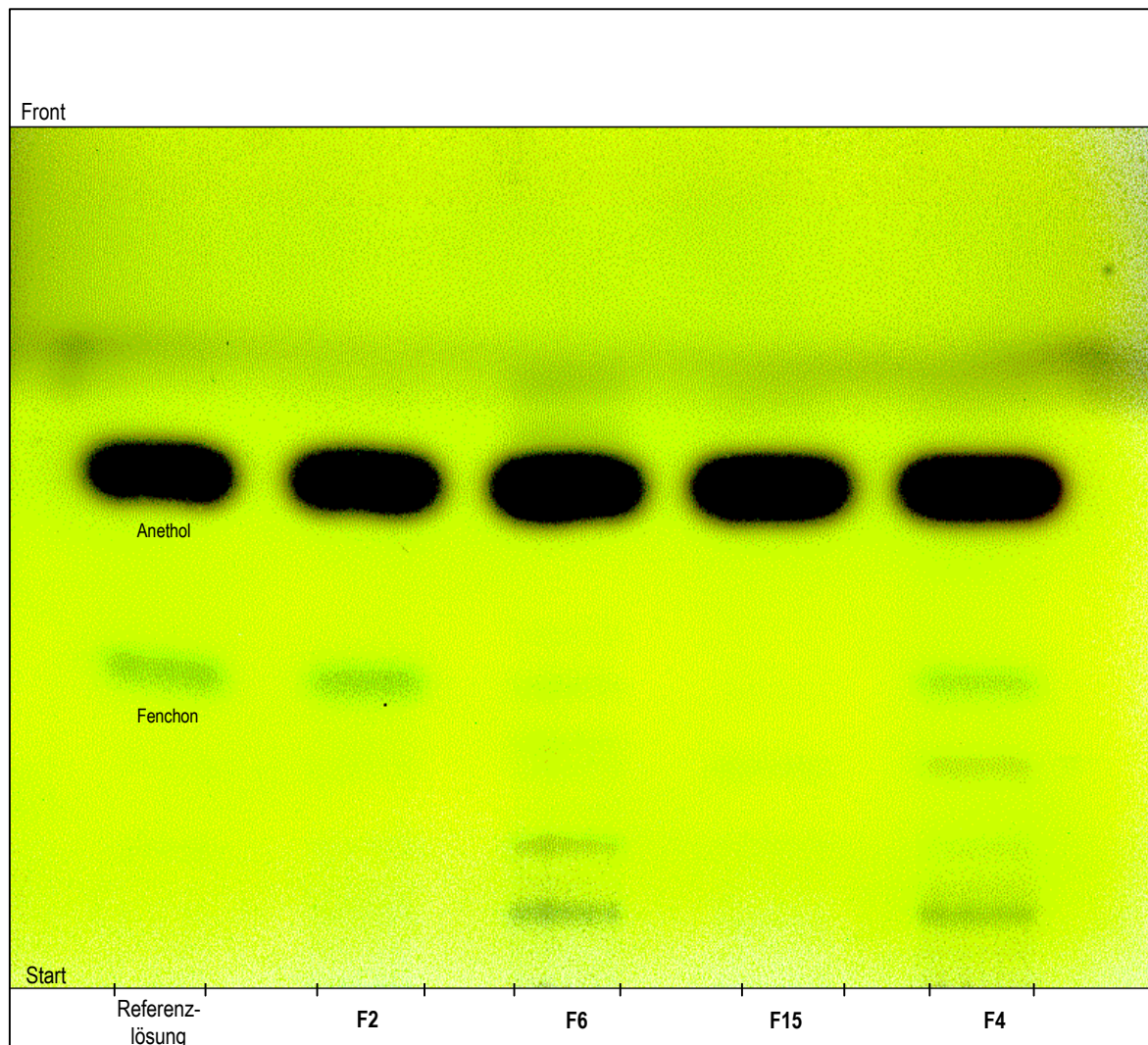
Für die Prüfung auf Identität mittels Dünnschichtchromatographie wird in der Monographie „Fenchelöl“ des DAB 2001 eine Kieselgel-Platte verwendet [4]. Als Referenzlösung dient nach Angaben des DAB eine Mischung aus 10 µl Fenchon *R* und 80 µl Anethol *R* in 5,0 ml Toluol *R* gelöst. Zur Herstellung der Untersuchungslösung werden 0,1 ml Öl in 5,0 ml Toluol *R* gelöst. Als Fließmittel dient eine Mischung aus 95 VT Toluol *R* und 5 VT Ethylacetat *R*. Nach der Entwicklung über 15 cm wird mit einer frisch hergestellten 20%igen Lösung (*m/V*) von Molybdätdiphosphorsäure *R* in Ethanol 96 % *R* besprüht und 15 min lang bei 150 °C erhitzt. Im Chromatogramm der Referenzlösung ist in der oberen Hälfte die dunkelblaue bis dunkelviolette Zone des Anethols zu erkennen, etwa in der Mitte erscheint die blaue bis blaugraue Zone des Fenchons (**Abb. 6**). Untersucht man bitteres Fenchelöl, so zeigt das Chromatogramm der Untersuchungslösung die Zonen des Anethols und des Fenchons. Weitere Zonen können vorhanden sein.

**Abb. 6** Schematische Darstellung eines typischen Bitterfenchelöl-DCs auf Kieselgel nach DAB 2001

Oberer Plattenrand	
Anethol: eine dunkelblaue bis dunkelviolette Zone	Eine intensive dunkelblaue bis dunkelviolette Zone (Anethol)
Fenchon: eine blaue bis blaugraue Zone	Eine blaue bis blaugraue Zone (Fenchon)
	Weitere Zonen können vorhanden sein
Referenzlösung	Untersuchungslösung

Wendet man diese Vorschrift auf süßes Fenchelöl an, so erhält man im Chromatogramm der 2%igen Untersuchungslösung die gleichen Banden, jedoch mit geringerer Intensität der Fenchon-Bande (**Abb. 7**). Die Zusammensetzung der Referenzlösung wurde in Angleichung an süßes Fenchelöl abgeändert. Sie setzt sich aus 100 µl Anethol und 20 µl Fenchon zusammen, die in 10 ml Toluol gelöst werden.

**Abb. 7** DC von süßen und bitteren Fenchelölen (*Untersuchungslösung*: 20 µl Fenchelöl in 1ml Toluol gelöst, *Referenzlösung*: 20 µl Fenchon und 100 µl Anethol gelöst in 10 ml Toluol, Auftragsmenge 10 µl, Sprühreagenz: Molybdato-Phosphorsäure-Reagenz)



**F2:** bitteres Fenchelöl des Handels; interne Chargen-Bezeichnung.

**F4, F6:** süße Fenchelöle des Handels, **F15:** selbstdestilliertes süßes Fenchelöl; interne Chargen-Bezeichnung.

Als zweite Methode wurde ein DC nach der Vorschrift der Monographie "süßer Fenchel" angefertigt. Hier wird eine Kieselgel-Platte als stationäre Phase vorgeschrieben, als mobile Phase eine Mischung aus 20 VT Hexan und 80 VT Toluol über eine Laufstrecke von 10 cm. Nach dem Trocknen wird mit konz. Schwefelsäure besprüht und 5 bis 10 min auf 140 °C erhitzt. Das Chromatogramm zeigt eine gelbe Zone im unteren Drittel, die dem Fenchon entspricht, sowie eine dem Anethol entsprechende violette Zone in der Mitte des Chromatogramms. Die Fenchon-Zone tritt nur bei Bitterfenchelölen deutlich auf, bei Süßfenchelölen mit etwa 7 % Fenchon ist eine sehr schwache Bande erkennbar, unter etwa 4 % Fenchon ist keine Bande mehr erkennbar. Zudem verblaßt die gelbe Farbe sehr schnell.

Wegen der genannten Schwierigkeiten eignet sich die aktuelle DAB-Methode wesentlich besser zur Identitätsprüfung von süßem Fenchelöl mittels DC als die Ph.-Eur.-Methode. Die Identitätsprüfung ist mit diesem DC bedingt möglich, eine definitive Aussage zur Zusammensetzung und eine endgültige Zuordnung darf jedoch nur nach der GC-Untersuchung gemacht werden.

#### ***1.2.2.2 Gaschromatographische Untersuchung***

Für süßes Fenchelöl besteht im DAB oder in der Ph. Eur. bisher keine Monographie. Deshalb sollte ein kompletter Monographie-Entwurf für Fenchelöl, süß, erarbeitet werden. Da die Inhaltsstoffe des Süßfenchels im wesentlichen mit denen des Bitterfenchels übereinstimmen, wurde die gleiche GC-Methode zur Untersuchung angewandt. Zur besseren Orientierung wurde eine große Anzahl weiterer Drogenproben nach Ph. Eur. destilliert.

Die Süßfenchelproben stammen von der Gen Bank Gatersleben und FAL Braunschweig. Das ätherische Öl wurde mit der „Simultanen Wasserdampfdestillation-Extraktionsmethode“ (SDE) gewonnen und danach gaschromatographisch untersucht [58]. Demnach enthielten die Proben 88,4 bis 96,4 % *trans*-Anethol, mit Ausnahme von „39/91 Italien“ mit 44,7 % und „45/93 Kuba“ mit 60,6 % *trans*-Anethol. Fenchon kommt nur in geringem Ausmaß vor, der höchste Wert wird mit 8,1 % in der Sorte „45/93 Kuba“ erreicht [58]. Diese Ergebnisse weichen wesentlich von den Untersuchungsergebnissen der vorliegenden Arbeit ab (**Tab. 13**). Vermutlich ist die Ursache für diese großen Differenzen die unterschiedliche Gewinnungsmethode. Es wird deutlich, daß die SDE als Extraktionsmethode nicht geeignet ist, wenn die Inhaltsstoffe der Fenchelfrüchte quantifiziert werden sollen.

**Tabelle 13:** Zusammensetzung selbst destillierter Fenchelöle (Wasserdampfdestillation)  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 30 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Destilliertes Öl Int. Ch.	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)						
	1	2	3	4	5	6	7
<b>F13</b>	1,55	3,53	0,41	3,36	0,07	85,36	0,55
<b>F14</b>	0,82	6,50	1,19	3,43	0,07	81,74	0,64
<b>F15</b>	1,67	3,41	0,38	3,34	0,10	85,83	0,13
<b>F16</b>	2,45	4,84	9,86	2,46	0,05	77,34	0,02
<b>F17</b>	3,05	4,68	12,16	2,52	0,06	73,68	0,03
<b>F18</b>	3,43	1,27	13,14	2,50	0,07	75,76	n.n.
<b>F19</b>	7,00	3,87	19,52	2,09	0,02	60,77	n.n.
<b>F20</b>	7,34	2,39	27,43	2,39	0,04	55,24	0,72
<b>F21</b>	5,19	4,12	32,06	1,86	0,02	51,09	0,03
<b>F22</b>	3,27	3,31	8,32	31,91	0,05	48,71	0,25
<b>F23</b>	3,31	2,24	24,35	56,74	n.n.	7,84	n.n.

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Limonen, 3: Fenchon, 4: Estragol, 5: *cis*-Anethol, 6: *trans*-Anethol, 7: Anisaldehyd;  
n.n. nicht nachweisbar.

Die Öle aus den Fenchelfrüchten **F13** bis **F15** sind eindeutig der Varietät *dulce* zuzuordnen. Die süßen Fenchelfrüchte entsprechen den Anforderungen der Ph. Eur. 1997. Der sehr hohe *trans*-Anethol-Gehalt korreliert mit sehr geringen Anteilen an Fenchon. Der Estragol-Gehalt ist bei diesen Proben unter der kritischen 5 %-Marke. Limonen ist in weit höherem Maße als  $\alpha$ -Pinen enthalten.

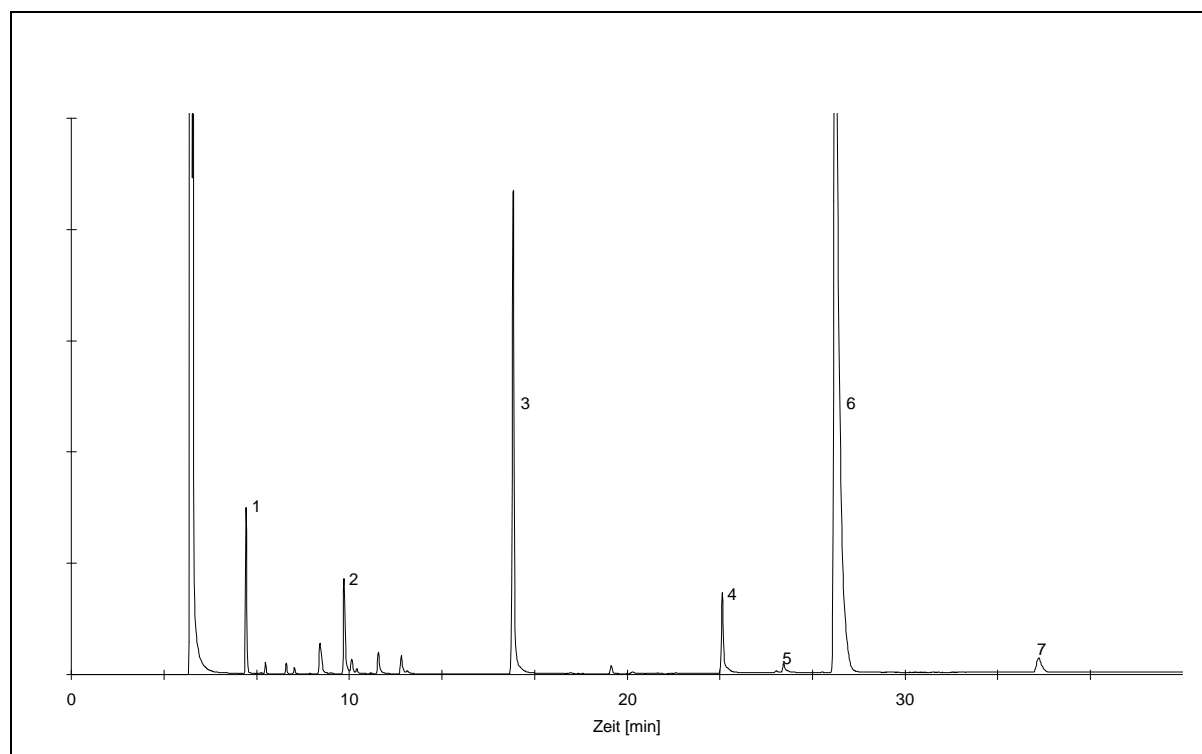
Bei den Proben **F16** bis **F18** ist keine eindeutige Varietätszuordnung möglich. *Trans*-Anethol bewegt sich in einem für süßen Fenchel typischen Bereich, es ist jedoch mit 9,9 bis 13,1 % relativ viel Fenchon enthalten, was eher für Bitterfenchel spricht. Zieht man die Monographien der Ph. Eur. zu Rate, entsprechen diese Fenchelfrüchte weder den für „Bitterer Fenchel“ geforderten mindestens 15 % Fenchon, noch den für „Süßer Fenchel“ geforderten mindestens 80 % Anethol. Auch die vom DAB 2001 angegebenen Grenzwerte für bitteres Fenchelöl können nicht vollständig erfüllt werden. Es handelt sich hierbei um die von GARCIA-JIMENEZ ET AL. beschriebenen „Zwischenvarietäten“, die sehr schwer chemotaxonomisch zu klassifizieren sind [54].

Bei **F19** bis **F21** handelt es sich um Bitterfenchelsorten, da neben viel Fenchon relativ viel  $\alpha$ -Pinen detektiert werden kann. Die Forderungen der Ph. Eur. für Bitterfenchelfrüchte von mindestens 15 % Fenchon und mindestens 60 % Anethol sind erfüllt, auch sind jeweils nicht mehr als 5 % Estragol zu finden. Der Geschmack von **F21** dürfte jedoch vom typischen Fenchelgeschmack abweichen und wegen der 32 % Fenchon unangenehm scharf und bitter schmecken.

**F22** und **F23** sind Wildfenchelsorten mit hohem Estragol-Gehalt. Im Vergleich zu den früher beschriebenen Wildfenchel-Handelsölen **F7** bis **F9** ist hier jedoch der Limonen-Gehalt nicht außergewöhnlich hoch. Etwa 90 % der ätherischen Öle dieser beiden Fenchelsorten werden von Estragol, Anethol und Fenchon bestritten.

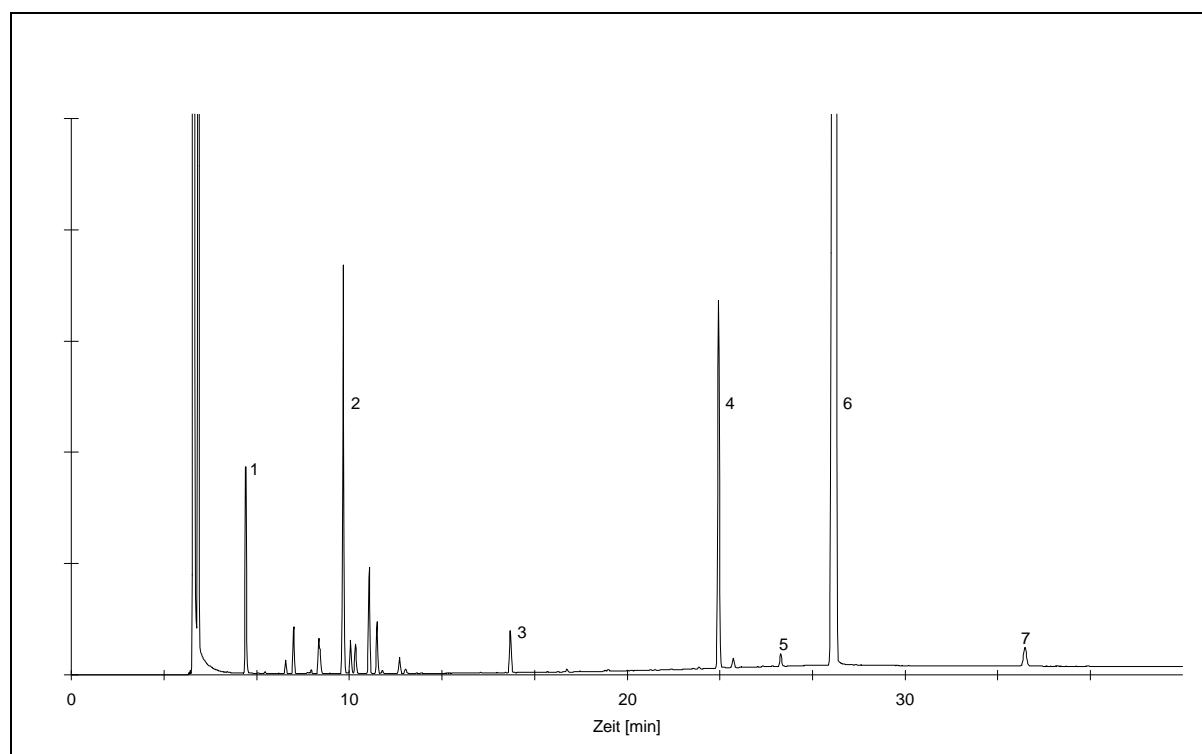
Die **Abbildungen 8** und **9** zeigen typische Gaschromatogramme von bitterem und süßem Fenchelöl, aufgezeichnet nach der beschriebenen achiralen Methode. Die wesentlichen Unterschiede in der Zusammensetzung sind bei diesen beiden Beispielen bereits auf den ersten Blick erkennbar. Aber auch in weniger eindeutigen Fällen ist in der Regel eine Zuordnung nach Bestimmung der relativen Flächenprozentage über vorgegebene Grenzwerte für die relevanten Komponenten möglich.

**Abb. 8** Typisches Gaschromatogramm eines bitteren Fenchelöls (**F1**), aufgezeichnet auf einer Macrolog-Säule 30 m (Säule A)



1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Limonen, 3: Fenchon, 4: Estragol, 5: *cis*-Anethol, 6: *trans*-Anethol, 7: Anisaldehyd.

**Abb. 9** Typisches Gaschromatogramm eines süßen Fenchelöls (**F15**), aufgezeichnet auf einer Macrolog-Säule 30 m (Säule A)



1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Limonen, 3: Fenchon, 4: Estragol, 5: *cis*-Anethol, 6: *trans*-Anethol, 7: Anisaldehyd.



### 1.2.2.3 Physikalische Reinheitsprüfungen nach Arzneibuch

Als physikalische Reinheitsprüfungen nach Arzneibuch, wie bei allen ätherischen Ölen, wurden die relative Dichte, die optische Drehung sowie der Brechungsindex der Süßfenchelöle bestimmt. Zusätzlich wurde der Bereich der Erstarrungstemperatur sowie die Säurezahl bei einer Anzahl von Proben ermittelt.

Für die relative Dichte ergaben sich Werte im Bereich von 0,963 bis 0,973. Für den Monographie-Entwurf wurde ein Bereich von 0,963 bis 0,975 vorgeschlagen. Die relative Dichte der Bitterfenchelöle ist im Schnitt etwas geringer als die der Süßfenchelöle, die Bereiche überschneiden sich jedoch, so dass keine eindeutige Unterscheidung möglich ist.

Die Bestimmung des Brechungsindex ergab eine Spanne von 1,537 bis 1,550 für die untersuchten Öle. Dieser Grenzbereich wurde auch in den Monographie-Entwurf übernommen. Die Werte für Bitterfenchelöle liegen wie bei der relativen Dichte etwas niedriger. Das DAB 2001 schreibt für bitteres Fenchelöl einen Bereich von 1,528 bis 1,539 vor. Das bedeutet, daß mit Hilfe des Brechungsindex eine Unterscheidung der beiden Varietäten nur begrenzt möglich ist.

Bei der Bestimmung der optischen Drehung wurden für die Süßfenchelöle Werte zwischen  $+4,86^\circ$  und  $+17,91^\circ$  erhalten. Für die Ph. Eur. wurde der Bereich von  $+4^\circ$  bis  $+18^\circ$  gewählt. Die optische Drehung wird hauptsächlich durch Fenchon hervorgerufen, d. h. je mehr Fenchon enthalten ist, desto höher ist der Drehwert. Das DAB 2001 fordert für bitteres Fenchelöl eine optische Drehung von  $+10^\circ$  bis  $+24^\circ$ . Die beiden Grenzbereiche überschneiden sich und bieten somit nur in geringem Maße eine Unterscheidungsmöglichkeit von bitterem und süßem Fenchelöl.

Da Fenchelöl durch den hohen Gehalt an *trans*-Anethol anfällig für Oxidationsreaktionen ist, sollte als weitere Reinheitsprüfung die Säurezahl bestimmt werden. Sie wird mit 5,0 g Öl bestimmt und sollte höchstens 1,0 betragen. Die untersuchten Handelsöle lagen deutlich unter diesem Richtwert.

Eine Reinheitsprüfung, die nur bei wenigen ätherischen Ölen angewandt werden kann, ist die Bestimmung der Erstarrungstemperatur. Sie stellt bei Anisöl und bitterem und süßem Fenchelöl eine einfache Kontrolle des Anethol-Gehalts dar. Ist der Anethol-Anteil niedrig, wie

bei Bitterfenchelöl, ist auch die Erstarrungstemperatur niedrig. Das DAB 2001 fordert für bitteres Fenchelöl mindestens +5 °C, was etwas über 50 % Anethol entspricht. Für die Süßfenchelöle wurden Werte zwischen 9,1 und 16,5 °C erhalten, deshalb wurde der Grenzwert auf 9 bis 17 °C festgelegt. Anethol selbst weist eine Erstarrungstemperatur von etwa 21 °C auf.

#### ***1.2.2.4 Diskussion des Monographie-Entwurfs***

Für die Prüfung auf Identität mittels DC wurde für den Monographie-Entwurf „Süßes Fenchelöl“ als Fließmittel eine Mischung aus 95 VT Toluol *R* und 5 VT Ethylacetat *R* gewählt. Als Sprühreagenz wird Molybdatophosphorsäure in Ethanol verwendet. Die Referenzlösung besteht aus 100 µl Anethol *R* und 20 µl Fenchon *R*, gelöst in 10 ml Toluol *R*. Die Intensität der Fenchon-Bande erlaubt in begrenztem Maße Rückschlüsse auf seine Konzentration. Dadurch ist eine Abschätzung möglich, ob es sich bei der vorliegenden Probe um die Varietät *dulce* oder *vulgare* handelt. Definitive Aussagen hierzu dürfen nur nach exakter quantitativer GC-Bestimmung der relevanten Einzelkomponenten gemacht werden.

Die GC-Analytik des chromatographischen Profils wird auf einer 30 m langen achiralen Macrogol-Säule von 0,32 mm ID durchgeführt. In die Auswahl der Grenzwerte für den Monographie-Entwurf „süßes Fenchelöl“ wurden die Ergebnisse der Untersuchung der Handelsöle, der selbst destillierten Öle und o. g. Literaturwerte einbezogen. Für den Hauptbestandteil *trans*-Anethol werden mindestens 75,0 % gefordert, für Fenchon hingegen höchstens 8,0 %. Für  $\alpha$ -Pinen wird ein Bereich von mindestens 1,0 und höchstens 4,0 %, für Limonen mindestens 2,0 und höchstens 8,0 % vorgeschlagen. Zusätzlich muß das Verhältnis Limonen :  $\alpha$ -Pinen größer 1 sein, somit umgekehrt wie bei bitterem Fenchelöl. Für Estragol wird die Höchstgrenze bei 5,0 %, für *cis*-Anethol bei 0,3 % und für Anisaldehyd bei 2,0 % festgelegt. Die Limitierung dieser drei Bestandteile ist somit identisch mit dem Monographie-Entwurf „bitteres Fenchelöl“. Obwohl die Monographie „Süßer Fenchel“ höchstens 10,0 % Estragol fordert, wurde aus Gründen der Unbedenklichkeit für das ätherische Öl der niedrigere Grenzwert gewählt.

Die GC-Methode erlaubt die Quantifizierung aller relevanten Bestandteile von süßem Fenchelöl. Liegen die Mengen der zu bestimmenden Inhaltsstoffe innerhalb der angegebenen Grenzen, liegt ein qualitativ hochwertiges, toxikologisch unbedenkliches Fenchelöl vor, das

eindeutig der Varietät *dulce* zugeordnet werden kann. Die Frage der Abgrenzung zu bitterem Fenchelöl wird mit dem Fenchon- und Anetholgehalt sowie mit dem Verhältnis von  $\alpha$ -Pinen zu Limonen eindeutig abgeklärt.

Die in Kapitel 3.2.2.3 dargestellten Grenzwerte für die physikalischen Reinheitsprüfungen nach Arzneibuch wurden in den Monographie-Entwurf übernommen. Somit werden als Reinheitsprüfung für süßes Fenchelöl die relative Dichte, der Brechungsindex, die optische Drehung, die Säurezahl und die Erstarrungstemperatur bestimmt.

### 1.2.3 Korianderöl

Korianderöl ist das durch Wasserdampfdestillation aus den getrockneten reifen Früchten von *Coriandrum sativum* L. gewonnene ätherische Öl. Die farblose bis schwach gelbe Flüssigkeit weist einen würzigen, charakteristischen Geruch nach Koriander auf.

Korianderöl wird von der Kommission E zur Behandlung von Appetitlosigkeit und dyspeptischen Beschwerden empfohlen. Das Öl wirkt karminativ und schwach spasmolytisch, zudem wird die Magensaftsekretion angeregt [30]. Das ätherische Öl oder ein alkoholischer Auszug aus den Früchten ist in einigen Kombinationspräparaten mit den Indikationen Flatulenz, Meteorismus und Reizmagen enthalten [15]. In vitro zeigt Korianderöl mittlere antibakterielle und antioxidative Aktivitäten [59].

Die Zusammensetzung verschiedener Korianderölchargen variiert nur geringfügig. Unabhängig vom Anbaugebiet und von der Art der Gewinnung ist die qualitative und quantitative Variationsbreite relativ schmal [60,61]. Der Hauptbestandteil von Korianderöl ist mit etwa 60-75 % Linalool. Das Verhältnis des R(-)-Enantiomers zum S(+)-Enantiomer liegt konstant bei etwa 13:87 und wird auch durch die Wasserdampfdestillation nicht beeinflusst [62]. Es ist eines der wenigen ätherischen Öle, bei dem hauptsächlich die S(+)-Form vorkommt. Bis zu 6 % Campher kann in Korianderöl enthalten sein, wovon etwa 75 % in der L(-)-Form vorliegen [63]. In Anteilen bis zu etwa 10 % treten  $\alpha$ -Pinen und  $\gamma$ -Terpinen auf, hinzu kommen maximal 5 % Limonen, p-Cymen, Geraniol und Geranylacetat. Weitere Komponenten wie  $\beta$ -Pinen, Camphen, Myrcen,  $\Delta^3$ -Caren und  $\alpha$ -Terpineol sind mit etwa 0,2 bis 1,0 % vertreten [59-61,64]. Eine charakteristische Spurenkomponente stellt Decanal dar, einer der Hauptbestandteile des Korianderkrautes [65].

Die Verbreitung von Koriander erstreckt sich fast über die ganze Welt. Zu den bedeutendsten Erzeugerländern zählen die GUS, verschiedene Balkanländer, Frankreich und Italien [65]. Auch das Korianderkraut liefert ein ätherisches Öl, das jedoch eine andere Zusammensetzung und einen unangenehmen wanzenartigen Geruch aufweist, wodurch entsprechende Verwechslungen oder Verfälschungen praktisch ausgeschlossen sind. Der Preis für 1 kg Korianderöl liegt, je nach Qualität, zwischen 20 und 95 € [53]. Früher übliche grobe Verfälschungen mit Anethol, Terpentinöl oder Pomeranzenöl sind heute nicht mehr zu finden, da sie selbst mit einfachen chromatographischen Methoden wie DC bereits erkannt werden

können [65]. Verfälschungen mit synthetischem Linalool kommen dagegen häufig vor [62]. Die GC-Untersuchung der Linalool-Enantiomeren ist aufgrund des charakteristischen Verhältnisses von R(-):S(+) hervorragend zum Nachweis einer derartigen Verfälschung geeignet. Verschnitte mit dem optisch nicht aktiven  $\gamma$ -Terpinen können mit einer chiralen GC-Untersuchung nicht erkannt werden. Die Aufklärung der Isotopenverhältnisse (GC-IRMS) kann Aufschluß über die Authentizität eines Korianderöls geben [62], stellt jedoch eine zu aufwendige Methode für die Arzneibuch-Analytik von ätherischen Ölen dar.

### 1.2.3.1 DC-Untersuchung von Korianderöl

Die DC-Untersuchung von Korianderöl erfolgte in Anlehnung an ein typisches ätherisch-Öl-DC auf einer Kieselgel-Platte mit 95 VT Toluol *R* und 5 VT Ethylacetat *R* als Fließmittel. Als Referenzlösung werden 100  $\mu$ l Linalool *R* und 20  $\mu$ l Geranylacetat *R* in 10 ml Toluol *R* gelöst. Für die Untersuchungslösung werden 10  $\mu$ l Korianderöl in 1 ml Toluol *R* gelöst. Die Entwicklung erfolgt zweimal über eine Strecke von 10 cm. Nach dem Trocknen wird mit Anisaldehyd-Reagenz *R* besprüht und das DC bei Tageslicht ausgewertet. Das Chromatogramm zeigt in der unteren Hälfte die violette bis grauviolette Zone des Linalools und etwas oberhalb der Mitte die blauviolett gefärbte Zone des Geranylacetats (**Abb. 10**). Im Chromatogramm der Untersuchungslösung erscheinen unter der Linalool-Zone zwei weitere schwache Zonen, die obere der beiden, eine blauviolette Zone, entspricht dem Geraniol.

**Abb. 10** Schematische Darstellung eines typischen Korianderöl-DCs auf Kieselgel

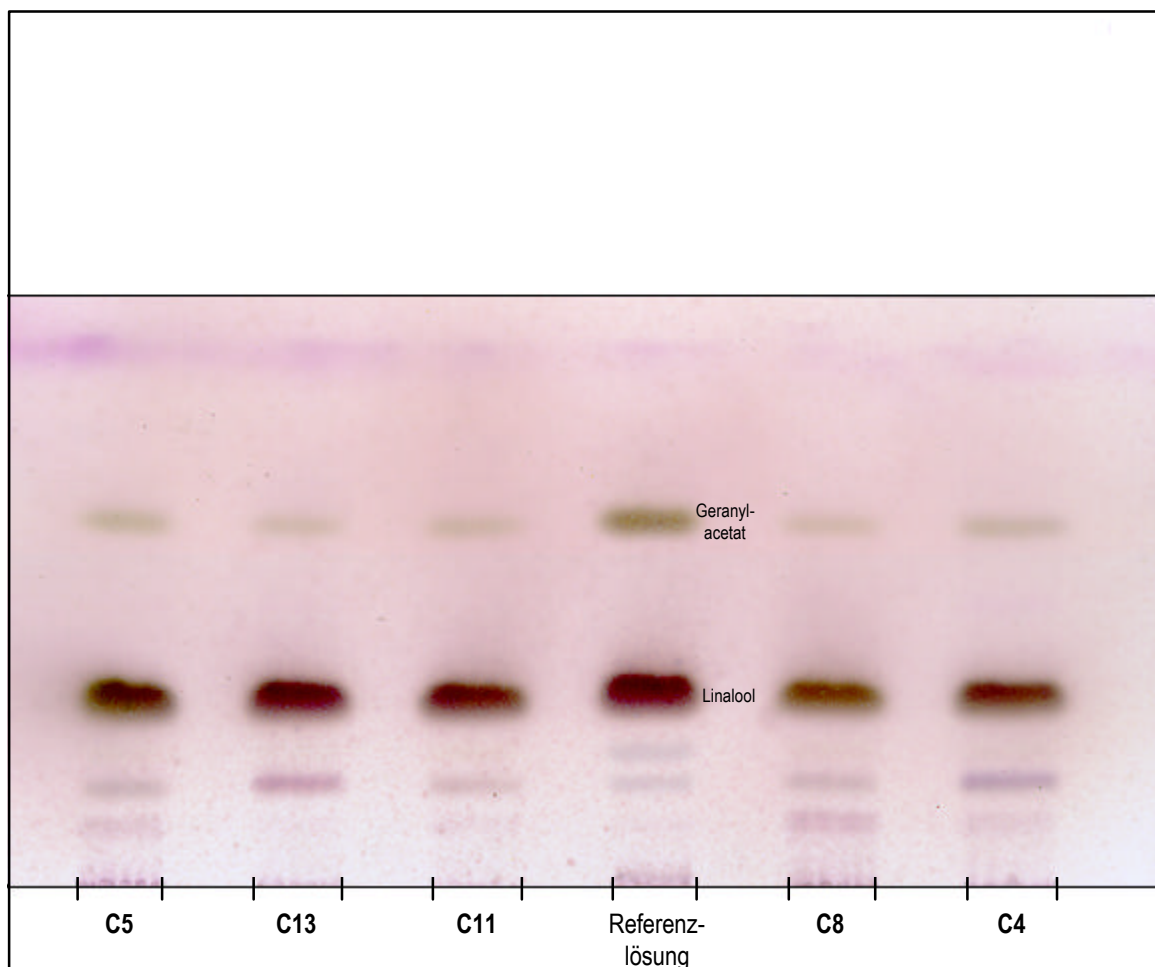
Oberer Plattenrand	
Geranylacetat: eine blauviolette Zone	Eine blauviolette Zone (Geranylacetat)
Linalool: eine intensive violette Zone	Eine intensive violette Zone (Linalool) Eine blauviolette Zone (Geraniol) Eine weitere schwache Zone kann vorhanden sein
Referenzlösung	Untersuchungslösung

Als zweite Referenzsubstanz neben Linalool wurde Geranylacetat gewählt, da die Monoterpenkohlenwasserstoffe  $\alpha$ -Pinen,  $\gamma$ -Terpinen, Limonen und p-Cymen zu stark flüchtig sind

und bereits vor der Sprühreaktion von der DC-Platte verdampfen. Campher lässt sich mit Anisaldehyd-Reagenz und auch mit Vanillin-Reagenz nur sehr schwer anfärben. Erst ab einer Campher-Konzentration von etwa 10 mg je ml Toluol entwickeln sich gefärbte Produkte. Geht man von einer Untersuchungslösung von 20 µl Korianderöl in 1 ml Toluol aus, so entspricht dies bei einem durchschnittlichen Campher-Gehalt von 5 % 1 mg Campher. Der Nachweis von Campher ist erst in der zehnfachen Konzentration des ätherischen Öls möglich, was zu einem starken Tailing der Linalool-Bande durch Überladung der DC-Platte führen würde.

**Abb. 11** DC von Korianderölen des Handels

(*Untersuchungslösung*: 10 µl Korianderöl in 1ml Toluol gelöst, *Referenzlösung*: 50 µl Linalool und 10 µl Geranylacetat gelöst in 10 ml Toluol, Auftragsmenge 10 µl, Sprühreagenz: Anisaldehyd-Reagenz)



**C4, C5, C8, C11:** unverfälschte Koriander-Handelsöle; interne Chargen-Bezeichnung.

**C13:** mit Linalool verschnittenes Koriander-Handelsöl; interne Chargen-Bezeichnung.

Die Identitätsprüfung von Korianderöl ist mit der angegebenen Methode möglich (**Abb. 11**). Da jedoch nur wenige Komponenten des ätherischen Öls im DC nachgewiesen werden können,

ist der Ausschluß von qualitativ minderwertigen, überlagerten oder verfälschten Proben begrenzt. Zur Beurteilung einer Handelsprobe ist die GC-Untersuchung unabdingbar.

#### ***1.2.3.2 Achirale Gaschromatographische Untersuchung von Korianderöl***

Bisher existiert weder im deutschen noch im europäischen Arzneibuch eine Korianderöl-Monographie. In der Monographie der BP erfolgt die Gehaltsbestimmung mittels GC auf einer gepackten Säule mit Geraniol als internem Standard [8]. Die Verwendung gepackter Säulen ist überholt, zudem ist Geraniol, als Bestandteil von Korianderöl, als interner Standard wenig geeignet.

Für die achirale GC-Untersuchung wurde die Methode des französischen Monographie-Entwurfs für Korianderöl angewandt. Es wird eine Fused-silica-Kapillarsäule von 25 m Länge mit einem ID von 0,25 mm, belegt mit einem 0,2 µm Film aus Macrogl 20000 *R* beschrieben (Säule *C*). Als Trägergas wird Helium zur Chromatographie *R* mit einer Durchflußrate von 0,5 ml je Minute eingesetzt. Für die Referenzlösung werden 10 µl α-Pinen *R*, 10 µl Limonen *R*, 10 µl γ-Terpinen *R*, 10 mg Campher *R*, 20 µl Linalool *R*, 10 µl α-Terpineol *R*, 10 µl Geranylacetat *R* und 10 µl Geraniol *R* in 1 ml Hexan *R* gelöst. Zur Herstellung der Untersuchungslösung wurden 20 µl Korianderöl in 1 ml Heptan *R* gelöst. Die Temperatur der Säule wird 10 min lang bei 60 °C gehalten, dann mit einer Heizrate von 2 °C je Minute auf 190 °C erhöht und 45 min lang bei 190 °C gehalten. Die Temperatur des Probeneinlasses wird bei 220 °C und die des Detektors bei 240 °C gehalten. Die Prüfung darf nur ausgewertet werden, wenn die Auflösung zwischen den Peaks von Limonen und γ-Terpinen mindestens 1,5 beträgt.

Die Prozentgehalte der einzelnen Komponenten werden durch das Verfahren der Normalisation bestimmt. In dem französischen Monographie-Entwurf sind für die ausgewählten Inhaltsstoffe folgende Grenzbereiche angegeben: α-Pinen 3,0 bis 7,0 %, Limonen 2,0 bis 5,0 %, γ-Terpinen 2,0 bis 7,0 %, Campher 4,0 bis 6,0 %, Linalool 65,0 bis 78,0 %, α-Terpineol 0,5 bis 1,5 %, Geraniol 0,5 bis 3,0 % und Geranylacetat 1,0 bis 3,5 %. Die Handelsölproben (**Tab. 14**) sowie die selbst destillierten Korianderöle (**Tab. 15**) wurden entsprechend dieser Vorschrift untersucht.

**Tabelle 14:** Zusammensetzung von Korianderölen des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 25 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>C1</b>	8,48	2,65	3,82	2,43	4,38	68,84	0,30	3,54	1,57
<b>C2</b>	8,43	2,56	4,35	1,78	4,25	69,47	0,33	3,38	1,65
<b>C3</b>	7,27	2,63	5,13	2,38	4,65	69,76	0,35	3,08	1,39
<b>C4</b>	7,84	2,47	3,53	2,62	4,44	70,21	0,32	3,20	1,43
<b>C5</b>	7,22	2,54	3,13	4,18	4,70	70,75	0,29	2,72	1,20
<b>C6</b>	5,50	2,52	4,46	2,93	4,86	71,73	0,91	2,59	1,30
<b>C7</b>	5,24	2,26	2,01	4,36	5,27	72,60	1,05	2,28	1,56
<b>C8</b>	4,11	2,24	1,00	6,38	4,84	73,34	0,60	2,46	1,33
<b>C9</b>	4,12	4,62	2,22	2,73	4,04	73,42	1,71	2,12	1,35
<b>C10</b>	5,33	2,04	0,66	5,46	5,16	73,62	0,40	2,18	1,25
<b>C11</b>	5,42	2,42	4,21	2,63	4,83	73,96	0,27	2,23	1,04
<b>C12</b>	5,48	2,40	3,24	3,61	4,90	73,98	0,26	2,14	1,03
<b>C13</b>	3,39	9,24	1,51	1,13	1,84	75,47	0,46	1,77	1,33
<b>C14</b>	2,97	1,41	5,43	0,70	3,81	79,21	0,25	1,56	1,84
<b>MW</b>	5,77	3,00	3,19	3,09	4,43	72,60	0,54	2,52	1,38
<b>CB1</b>	1,49	0,37	1,92	0,77	1,28	26,59	0,19	0,67	0,47

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Limonen, 3:  $\gamma$ -Terpinen, 4: p-Cymen, 5: Campher, 6: Linalool, 7:  $\alpha$ -Terpineol, 8: Geranylacetat, 9: Geraniol.

Die Proben **C1** bis **C5** weisen verglichen mit den geforderten französischen Grenzwerten zu hohe Anteile an  $\alpha$ -Pinen auf (**Tab. 14**). Wie jedoch der Vergleich mit den authentischen Proben (**Tab. 15**) zeigt, wurden hier die Grenzwerte etwas unglücklich gewählt, da die selbst destillierten Korianderöle durchwegs hohe  $\alpha$ -Pinen-Gehalte aufweisen und sogar der Mittelwert mit 8,3 % deutlich über der Höchstgrenze von 7,0 % liegt. Der niedrigere Durchschnittswert für  $\alpha$ -Pinen in den Handelsölen lässt sich durch die leichte Flüchtigkeit der Substanz erklären, wodurch in älteren Ölen der Gehalt abnimmt. Der Limonen-Gehalt der Probe **C14** ist zu gering, während die Probe **C13** einen zu hohen Anteil aufweist. Auch einige der selbst destillierten Korianderöle (**C15**, **C17**, **C18**) enthalten geringfügig zu wenig Limonen.



Die Ursache dafür liegt vermutlich darin, daß Limonen bei der Destillation verzögert aus der Pflanzenmatrix freigesetzt wird. Die Proben **C8**, **C10** und **C13** enthalten zu wenig  $\gamma$ -Terpinen. Gleichzeitig können bei **C8** und **C10** erhöhte p-Cymen-Werte festgestellt werden. p-Cymen wird in dem französischen Monographie-Entwurf nicht bestimmt, es wäre jedoch sehr sinnvoll, hier Grenzwerte festzulegen, da p-Cymen zwar ein genuiner Bestandteil von Korianderöl ist, jedoch auch beim oxidativen Abbau von  $\gamma$ -Terpinen gebildet wird (vgl. *Kiefernadelöl*). Somit können erhöhte Werte wertvolle Hinweise auf überlagerte Öle liefern. Vergleicht man die Mittelwerte für  $\gamma$ -Terpinen und p-Cymen der Handelsöle mit denen der selbst destillierten Öle, kann ein deutlicher Unterschied festgestellt werden. Während die Handelsöle durchschnittlich nur 3,19 %  $\gamma$ -Terpinen enthalten, liegt der durchschnittliche Wert selbst destillierter Öle bei 7,42 %. Betrachtet man p-Cymen, kann das Gegenteil beobachtet werden. Durchschnittlich 3,09 % bei den Handelsölen stehen hier 1,67 % bei den selbst destillierten Proben gegenüber.

**Tabelle 15:** Zusammensetzung von selbst destillierten Korianderölen  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 25 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Dest. Öl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>C15</b>	9,37	1,86	8,12	1,55	2,88	65,22	0,31	3,23	1,82
<b>C16</b>	9,16	1,98	8,39	0,94	3,08	66,06	0,26	3,24	2,06
<b>C17</b>	7,60	1,85	7,89	3,59	3,20	66,06	0,34	3,18	1,63
<b>C18</b>	9,04	1,93	7,28	2,08	3,06	66,67	0,25	2,96	2,05
<b>C19</b>	7,86	1,98	9,21	1,40	3,65	66,72	0,26	2,35	2,04
<b>C20</b>	8,01	2,11	6,51	1,28	3,60	68,40	0,29	2,61	2,17
<b>C21</b>	7,09	2,46	4,53	0,88	4,70	70,03	0,35	3,36	1,69
<b>MW</b>	8,30	2,02	7,42	1,67	3,45	67,02	0,29	2,99	1,92

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Limonen, 3:  $\gamma$ -Terpinen, 4: p-Cymen, 5: Campher, 6: Linalool, 7:  $\alpha$ -Terpineol, 8: Geranylacetat, 9: Geraniol.

In den Proben **C13** und **C14** wird zu wenig Campher gefunden, aber auch die selbst destillierten Proben **C15** bis **C20** weisen gemäß dem französischen Monographie-Entwurf zu geringe Gehalte auf. Vergleicht man diese Ergebnisse mit Literaturangaben für Campher [61,64.], so zeigt sich, daß hier eine zu schmale Grenzspanne gewählt wurde. Die Gehalte an Linalool, Geranylacetat und Geraniol liegen bei allen Proben, ausgenommen **C14**, die etwas zuviel Linalool enthält, innerhalb der geforderten Grenzwerte. Dagegen liegen alle selbst

destillierten Öle, aber auch eine große Anzahl der Handelsproben unter dem Mindestwert für  $\alpha$ -Terpineol. Die Bestimmung dieser für Korianderöl wenig charakteristischen Komponente allgemein sowie die Festsetzung der Grenzwerte sind nicht nachvollziehbar. Lediglich die Proben **C6** und **C7** entsprechen den Forderungen des französischen Monographie-Entwurfs. Auch keines der selbst destillierten Korianderöle kann die Anforderungen erfüllen.

Neben den bereits dargestellten Nachteilen der Methode des französischen Monographie-Entwurfs ergeben sich bei genauer Betrachtung noch eine Reihe weiterer Probleme. Zum einen können die relativ häufig vorkommenden Verfälschungen mit Linalool nicht erkannt werden. Aber auch die GC-Methode selbst ist nicht optimal gewählt, da eine Analysenzeit von 120 min für ein unkompliziertes ätherisches Öl wie Korianderöl wesentlich zu lang ist. Zudem wird kein Splitverhältnis angegeben, eine wichtige Angabe zur Gewährleistung der Reproduzierbarkeit der Methode. Die im folgenden dargestellte chirale Methode weist deutliche Vorteile gegenüber dieser achiralen Methode auf.

#### ***1.2.3.3 Chirale Gaschromatographische Untersuchung von Korianderöl***

Die chirale GC-Untersuchung von Korianderölen wurde auf einer Fused-Silica-Kapillarsäule (50 m), belegt mit einem  $\beta$ -Cyclodextrinderivat, das an Position 2 und 3 einen Diacetylrest und an Position 6 einen tert-Butyldimethylsilylrest trägt (*Säule E*). Als Trägergas wird Helium zur Chromatographie *R* mit einer Flußrate von 1,5 ml je Minute eingesetzt. Die Temperatur der Säule wird 3 min lang bei 88 °C gehalten, dann mit einer Heizrate von 1 °C je Minute auf 140 °C erhöht. Die Temperatur des Probeneinlasses und des Detektors wird jeweils bei 220 °C gehalten. Mit dieser Methode können die Enantiomeren von Linalool und Campher aufgetrennt werden.

Bei der Untersuchung der Linalool-Enantiomeren kann bei den meisten Koriander-Handelsölen, eingeschlossen dem Korianderblattöl **CB1**, das in der Literatur beschriebene konstante Verhältnis von R(-):S(+) von 13:87 festgestellt werden (**Tab. 16**). Geringfügig zuviel R(-)-Linalool ist in der Probe **C6**, wesentlich zuviel hingegen in den Proben **C7**, **C9** und **C13** zu finden. Diese Handelsöle wurden eindeutig durch den Zusatz von synthetischem *rac.* Linalool verfälscht. Auch L(-)- und D(+)-Campher liegen in Korianderöl in einem konstanten Verhältnis von etwa 86:14 bis 88:12 vor. Die mit Linalool verfälschte Probe **C7** weicht als

einzigste durch einen etwas zu hohen Anteil an D(+)-Campher von diesem Verteilungsschema ab, was auf den Zusatz von *rac.*- oder D(+)-Campher hindeutet.

**Tabelle 16:** Enantiomerenverteilung von Linalool und Campher in Korianderölen des Handels, GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule E)

Handelsöl Int. Ch.:	R(-)-Linalool : S(+)-Linalool	L(-)-Campher : D(+)-Campher
<b>C1</b>	13,0 : 87,0	87,3 : 12,7
<b>C2</b>	13,0 : 87,0	87,3 : 12,7
<b>C3</b>	13,0 : 87,0	88,4 : 11,6
<b>C4</b>	13,1 : 86,9	87,4 : 12,6
<b>C5</b>	12,8 : 87,2	88,0 : 12,0
<b>C6</b>	14,2 : 85,8	88,5 : 11,5
<b>C7</b>	23,1 : 76,9	81,6 : 18,4
<b>C8</b>	13,4 : 86,6	87,9 : 12,1
<b>C9</b>	30,3 : 69,7	87,3 : 12,7
<b>C10</b>	12,9 : 87,1	87,6 : 12,4
<b>C11</b>	12,9 : 87,1	87,9 : 12,1
<b>C12</b>	12,7 : 87,3	88,5 : 11,5
<b>C13</b>	35,2 : 64,8	86,4 : 13,6
<b>C14</b>	12,7 : 87,3	88,3 : 11,7
<b>CB1</b>	12,8 : 87,2	87,6 : 12,4

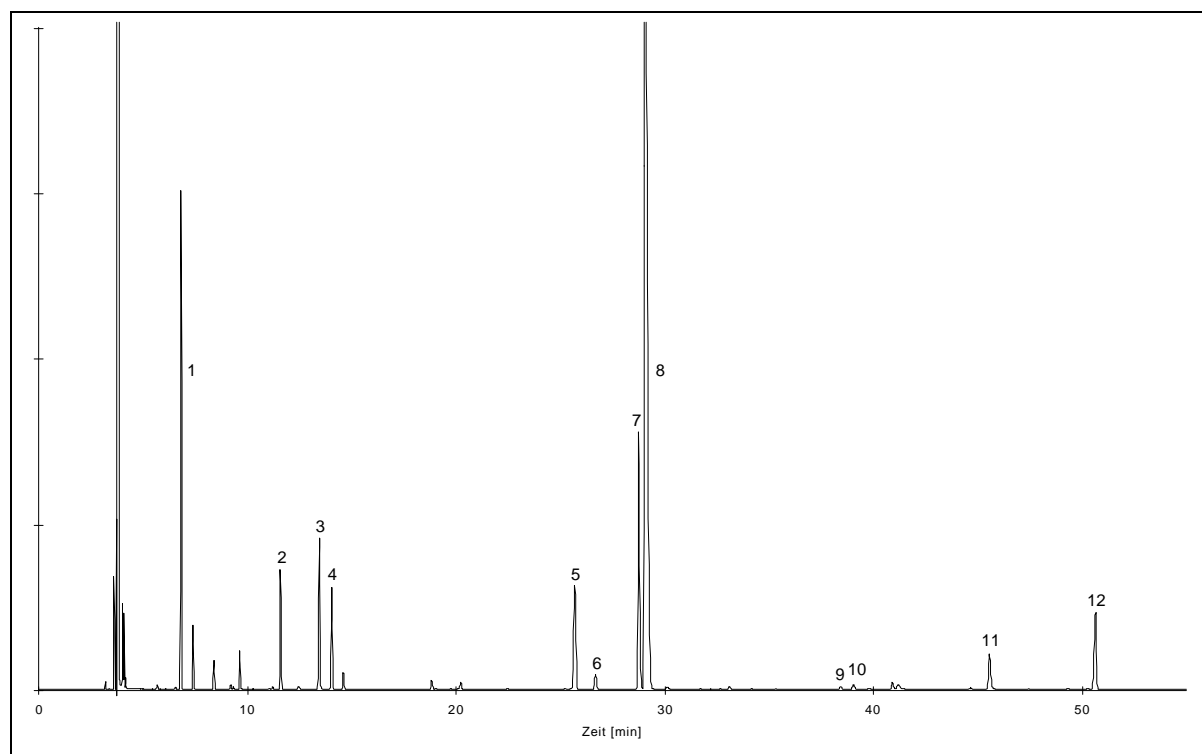
Die chirale Untersuchung der selbst destillierten Korianderöle (**Tab. 17**) belegt eindrucksvoll die in der Literatur beschriebenen Enantiomerenverhältnisse von Linalool und Campher. Sowohl R(-)- und S(+)-Linalool, als auch D(+)- und L(-)-Campher treten in etwa im Verhältnis von 13:87 auf.

**Tabelle 17:** Enantiomerenverteilung von Linalool und Campher in selbst destillierten Korianderölen, GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule E)

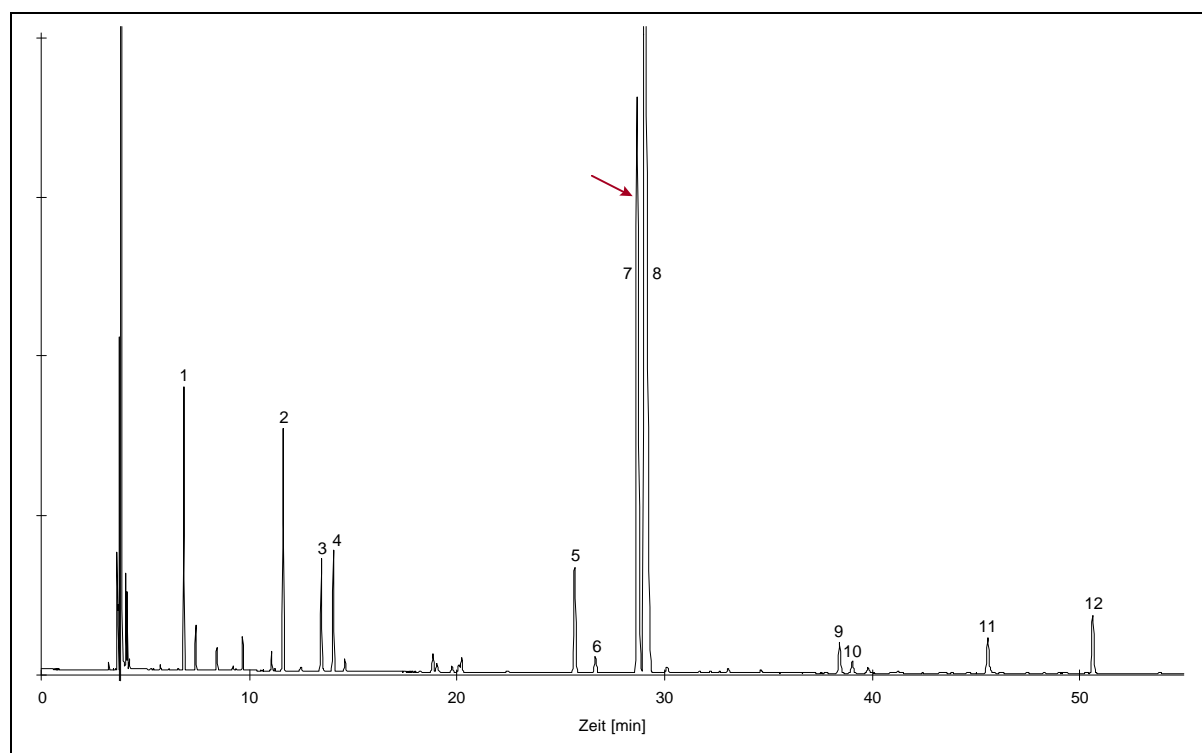
Dest. Öl Int. Ch.:	R(-)-Linalool : S(+)-Linalool	L(-)-Campher : D(+)-Campher
<b>C15</b>	13,3 : 86,7	86,5 : 13,5
<b>C16</b>	13,1 : 86,9	87,0 : 13,0
<b>C17</b>	12,6 : 87,4	87,5 : 12,5
<b>C18</b>	13,2 : 86,8	86,6 : 13,4
<b>C19</b>	12,7 : 87,3	87,9 : 12,1
<b>C20</b>	13,0 : 87,0	87,2 : 12,8
<b>C21</b>	13,1 : 86,9	87,2 : 12,8

In **Abb. 12** und **Abb. 13** sind Gaschromatogramme eines unverfälschten (**C4**) und eines verfälschten Koriander-Handelsöls (**C9**) dargestellt. Der erhöhte R(-)-Linalool-Anteil bei C9 ist deutlich zu erkennen (Markierung mit Pfeil).

**Abb. 12** Typisches Gaschromatogramm eines Korianderöls (**C4**), aufgezeichnet auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule E).



**Abb. 13** Gaschromatogramm eines verfälschten Korianderöls (**C9**), aufgezeichnet auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule E).



Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Limonen, 3:  $\gamma$ -Terpinen, 4: p-Cymen, 5: L(-)-Campher, 6: D(+)-Campher, 7: R(-)-Linalool, 8: S(+)-Linalool, 9: (-)- $\alpha$ -Terpineol, 10: (+)- $\alpha$ -Terpineol, 11: Geraniol, 12: Geranylacetat.

Vier (**C6**, **C7**, **C9**, **C13**) der 14 untersuchten Koriander-Handelsöle konnten bei der chiralen GC-Untersuchung als Verschnitte mit synthetischem Linalool beurteilt werden. **C6** und **C7** entsprachen bei der achiralen Untersuchung in allen Punkten den Forderungen des französischen Monographie-Entwurfs. **C9** enthielt lediglich etwas zuviel  $\alpha$ -Terpineol. **C13** wurde bereits nach den Ergebnissen der achiralen GC als minderwertig eingestuft. Bei **keiner** dieser Proben konnte jedoch nach der „französischen Methode“ der Zusatz von Linalool festgestellt werden. Zudem beträgt die Aufzeichnungszeit bei der chiralen Methode lediglich 55 min im Vergleich zu 120 min bei der achiralen. Somit bringt die chirale Untersuchung von Korianderöl deutliche Vorteile mit sich. Durch die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Linalool, in Verbindung mit Grenzwertangaben für die übrigen relevanten Komponenten, können mit der vorgestellten chiralen Methode minderwertige und verfälschte Korianderöle erkannt werden.

#### ***1.2.3.4 Physikalische Reinheitsprüfungen nach Arzneibuch***

Die klassischen Kennzahlen relative Dichte, Brechungsindex und optische Drehung wurden bei einer Anzahl an Koriander-Handelsölen ermittelt. Für die relative Dichte ergaben sich Werte von 0,866 bis 0,878. Die BP 1998 [8] schreibt einen Bereich von 0,863 bis 0,870 vor, während die USP XXI [9] Werte von 0,863 bis 0,875 zulässt. Die Brechungsindices der Handelsöle bewegten sich in einem sehr schmalen Bereich von 1,463 bis 1,466. Die BP und die USP erlauben beim Brechungsindex Werte zwischen 1,462 und 1,472. Die optische Drehung der Korianderöle schwankte zwischen  $+8,5^\circ$  und  $+14,0^\circ$ . Die BP verlangt eine optische Drehung im Bereich von  $+8^\circ$  bis  $+12^\circ$ , während die USP einen größeren Bereich von  $+8^\circ$  bis  $+15^\circ$  akzeptiert.

#### 1.2.3.5 Diskussion des Korianderöl-Monographie-Entwurfs

Für die Identitätsprüfung von Korianderöl mittels DC wurde das für ätherische Öle allgemein gebräuchliche Fließmittel aus Toluol und Ethylacetat im Verhältnis 95:5 gewählt. Durch zweimaliges Entwickeln über eine Laufstrecke von 10 cm wird eine bessere Auflösung der Banden als nach einmaliger Entwicklung erreicht. Nach Besprühen mit Anisaldehyd-Reagenz *R* können die beiden relevanten Komponenten Linalool und Geranylacetat bei Tageslicht ausgewertet werden. Die Methode ermöglicht Identitätsprüfung, jedoch sollte zur eindeutigen Abklärung sowie zur Reinheitsbeurteilung unbedingt eine GC-Prüfung durchgeführt werden.

Das „Chromatographische Profil“ von Korianderöl wurde auf Basis einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule entwickelt, womit Linalool in seine Enantiomeren getrennt werden kann. Für S(+)-Linalool ergibt sich ein Bereich von 56,0 bis 67,0 %, für R(-)-Linalool ein Bereich von 7,0 bis 10,0 %. Diese Grenzwerte entsprechen in etwa dem früher beschriebenen Verhältnis von (+):(-) von 87:13. Ein Bereich von 3,0 bis 10,0 % wurde für  $\alpha$ -Pinen vorgeschlagen. Die selbst destillierten Öle wiesen durchschnittlich höhere Anteile des Monoterpens auf, während sich bei den Handelsölen vermutlich bereits ein Teil verflüchtigt hatte. Der Limonen-Gehalt wurde auf 1,0 bis 4,0 % festgesetzt. Die beiden Handelsöle, die höhere Limonen-Werte aufweisen, waren mit synthetischem Linalool verfälscht und können daher nicht als Richtwerte verwendet werden. Für  $\gamma$ -Terpinen wurde ein Bereich von 3,0 bis 9,0 % gewählt, während p-Cymen im Bereich von 0,5 bis 4,0 % vertreten sein sollte. p-Cymen ist bereits in frisch destillierten Korianderölen zu finden, wird jedoch bei längerer Lagerung auch unter Einfluß von Licht und Luftsauerstoff aus  $\gamma$ -Terpinen gebildet. In überlagerten Korianderölen sind daher unnatürlich hohe p-Cymen-Anteile in Verbindung mit stark erniedrigten  $\gamma$ -Terpinen-Werten zu finden. Campher wird auf der verwendeten Säule in seine Enantiomere aufgetrennt. Die Bestimmung des Enantiomerenverhältnisses ist jedoch nicht angezeigt, da nur ein Handelsöl geringfügig zuviel D(+)-Campher aufwies, diese Probe aber ohnehin als verfälscht durch Zusatz von Linalool erkannt worden war. So sollte der Gesamtgehalt an Campher zwischen 2,5 und 6,0 % liegen. Geranylacetat, ein wichtiger Bestandteil von Korianderöl, der zur angenehmen geruchlichen Gesamtnote des Öls beiträgt, sollte von 1,0 bis 5,0 % vertreten sein. Die Bestimmung von Geranylacetat bietet als weiteren Vorteil die späte Elution bei etwa 51 min. Durch Einhaltung der vorgeschriebenen Analysenzeit von 55 min wird die Genauigkeit bei der Quantifizierung der Einzelkomponenten

durch das Verfahren der Normalisation erhöht. Die Grenzwerte dieses Monographie-Entwurfs, die sich teilweise deutlich von den Grenzwerten des französischen Monographie-Entwurfs unterscheiden, wurden aus den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen sowie aus Literaturwerten zusammengestellt.

Wegen der geringen Probenzahl bei den physikalischen Reinheitsprüfungen wurden bei der Festlegung der Grenzwerte die Angaben der BP und der USP berücksichtigt. Für die relative Dichte wurde der Bereich von 0,863 bis 0,875 gewählt. Der Brechungsindex sollte zwischen 1,462 und 1,472 liegen, während die optische Drehung zwischen  $+10,0^{\circ}$  und  $+14,0^{\circ}$  betragen sollte.

### 1.3 Ätherische Öle der Rutaceae

Die Familie der Rautengewächse besteht hauptsächlich aus tropisch-subtropischen Holzpflanzen. Die Blätter sind wechselständig angeordnet, die Blüten radiärsymmetrisch. Die Rutaceae sind reich an ätherischem Öl, das in schizolysigenen Exkretbehältern gebildet und gespeichert wird. *Citrus* ist die wichtigste Gattung der Rutaceen, sie stammt ursprünglich aus Südasien. Das ätherische Öl ist in Blättern, Blüten und Früchten enthalten. Bei den Früchten handelt es sich um Beeren, aus denen das ätherische Öl durch Auspressen der Schale gewonnen wird, während dies bei Blättern und Blüten durch Wasserdampfdestillation geschieht. Wichtige Vertreter der Gattung *Citrus* sind Zitrone (*C. limon*), Orange (*C. sinensis*), Pomeranze (*C. aurantium*), Grapefruit (*C. paradisi*), Mandarine (*C. reticulata*), Limette (*C. aurantifolia*) und Clementine (*C. deliciosa*) [28,29].

#### 1.3.1 Bitterorangenblütenöl

Bitterorangenblütenöl ist das durch Wasserdampfdestillation aus den frischen Blüten von *Citrus aurantium* L. ssp. *aurantium* (*C. aurantium* L. ssp. *amara* ENGL.) gewonnene klare bis schwach gelbe ätherische Öl mit einem charakteristischen Geruch nach Bitterorangenblüten [2].

Der Bitterorangenbaum enthält eine Reihe aromatischer ätherischer Öle in den unterschiedlichen Organen. Nicht nur die Blüten werden zur Ölgewinnung eingesetzt, aus Blättern und Zweigen gewinnt man das sog. Petitgrainöl, während man durch Auspressen der Schalen der reifen Früchte das Bitterorangenöl erhält [66]. Hauptanbaugebiete sind die nordafrikanischen Länder Tunesien, Ägypten, Algerien und Marokko. Spanien, die Provence und das südliche Italien haben vor allem wegen der aufwendigen Ernte mit steigenden Arbeitslöhnen an Bedeutung als Lieferanten von Bitterorangenblütenöl verloren.

Bitterorangenblütenöl, nach der Prinzessin von Neroli (Ort in der Nähe von Rom) auch „Neroliöl“ genannt, hat als Arzneistoff keine Bedeutung [67]. Volksmedizinische Anwendungen als Sedativum bei leichten Schlafstörungen und Nervosität sowie bei Magen-Darm-Beschwerden, Atemwegserkrankungen und Nieren- und Blasenerkrankungen sind



wissenschaftlich nicht begründet. Als pharmazeutisches Einsatzgebiet kommt nur die Verwendung als Geschmacks- und Geruchskorrigens in Betracht [3]. Bitterorangenblütenöl ist ein oft eingesetzter Duftstoff der Parfümindustrie, so stellt es z. B. die tonangebende Komponente der Eaux de Cologne "4711", "Origan" und "Chanel No. 5" dar .

Linalool ist mit ca. 30 bis 60 % der Hauptinhaltsstoff von Bitterorangenblütenöl. Wie im Lavendelöl dominiert auch hier das R-Isomer des Linalools. Es zeigt jedoch im Gegensatz zum Lavendelöl eine wesentlich größere Tendenz zur partiellen Racemisierung. Während der Wasserdampfdestillation können in Abhängigkeit des pH-Werts des Destillationssumpfes und der Destillationsdauer bis zu 30 % S(+)-Linalool gebildet werden [68]. R(-)-Linalylacetat hoher Enantiomerenreinheit von mindestens 95 % wird in Anteilen von etwa 3 bis 20 % gefunden, unabhängig von Herkunft und Gewinnung des Öls [69]. Der Ester an sich ist unter den Bedingungen der Wasserdampfdestillation instabil, es entsteht vorwiegend Linalool, aber auch andere Monoterpenoide und Terpenkohlenwasserstoffe können gebildet werden. Dies zeigt sich besonders deutlich beim Vergleich eines wasserdampfdestillierten Öls mit einem Öl, das durch überkritische CO<sub>2</sub>-Extraktion gewonnen wurde [70]. Von den Monoterpenkohlenwasserstoffen in Bitterorangenblütenölen sind hauptsächlich  $\beta$ -Pinen und Limonen zu nennen, beide etwa in Anteilen von 3 bis 20 %. Sauerstoffhaltige Monoterpene sind vielfältiger vertreten. Neben Linalool und Linalylacetat sind v.a. Nerol und Geraniol sowie die entsprechenden Essigsäureester und  $\alpha$ -Terpineol bedeutende Komponenten von Neroliöl [71,72]. *trans*-Nerolidol ist ein charakteristischer Bestandteil mit etwa 2 bis 9 %, der einen wesentlichen Beitrag zum blumigen Charakter des ätherischen Öls leistet. Das Sesquiterpen kommt in hoher Enantiomerenreinheit von mindestens 98 % im Bitterorangenblütenöl vor [69]. Als aromarelevante Spurenkomponenten wurden Methylantranilat, Jasmon und Indol gefunden [73]. Bei Headspace-Untersuchungen konnte 2-Methylbutyronitril identifiziert werden [70].

Die Ausbeute bei der Neroliöl-Gewinnung liegt zwischen 0,08 und 0,20 %, für 1 kg ätherisches Öl werden etwa 850 kg sorgfältig gepflückte Blüten benötigt [74]. Dies spiegelt sich im Preis wider, der bei 1200 bis 3000 € je kg Bitterorangenblütenöl liegt. Es ist deshalb verständlich, daß häufig verfälschte Neroliöle im Handel auftauchen. Unter den vielfältigen Verfälschungsmöglichkeiten ist die Streckung mit dem wesentlich preisgünstigeren Petitgrainöl naheliegend, da es sehr ähnliche geruchliche und inhaltliche Eigenschaften aufweist. Auch der Zusatz von Orangenschalenöl ist möglich. Hinzu kommen synthetische Substanzen wie

Linalool, Linalylacetat, Methylantranilat, Limonen, Phenylethylalkohol, etc. Es sind auch vollständig nachgestellte synthetische Öle im Handel, die für billigere Parfümkompositionen eingesetzt werden [67]. Verfälschungen sind relativ schwer nachzuweisen, da es sich bei den meisten um genuine Bestandteile von Bitterorangenblütenöl handelt. Mittels DC können Cumarinderivate, die von Verunreinigungen mit Orangenöl stammen, nachgewiesen werden. Durch GC-Untersuchung auf einer achiralen Macrogol-Säule, wie sie die Ph. Eur. NT 2001 vorschreibt, können unnatürlich erhöhte Anteile an Limonen, Linalylacetat und Methylantranilat sowie zu geringe Mengen oder das Fehlen charakteristischer Komponenten wie *trans*-Nerolidol festgestellt werden. Der Nachweis von Linalool-Zusätzen gestaltet sich problematisch, da dieses in einer weiten Grenzspanne von 18,0 bis 42,0 % zugelassen ist. Die Untersuchung der Linalool-Enantiomerenverhältnisse kann Hinweise auf verfälschtes Neroliöl geben. Die Nachweis-Treffericherheit ist in diesem Fall jedoch wesentlich geringer als beim Lavendelöl, da während der Destillation in erhöhtem Maße eine Racemisierung stattfindet. Die Bestimmung der Enantiomerenverteilung weiterer Inhaltsstoffe kann die Genauigkeit der Authentizitäts-Untersuchung positiv beeinflussen [69].

#### ***1.3.1.1 DC-Untersuchung von Bitterorangenblütenöl***

Die aktuelle Monographie der Ph. Eur. NT 2001 läßt die Identität von Bitterorangenblütenöl nicht nur gaschromatographisch, sondern auch mittels Kieselgel-DC überprüfen. Zur Herstellung der Untersuchungslösung wird 0,1 g ätherisches Öl in Ethanol 96 % *R* zu 5,0 ml gelöst. Für die Referenzlösung werden 5 µl Methylantranilat *R*, 10 µl Linalool *R*, 20 µl Linalylacetat *R* und 10 mg Bergapten *R* in Ethanol 96 % *R* zu 10,0 ml gelöst. Es werden jeweils 10 µl der Lösung bandförmig aufgetragen. Als Fließmittel wird eine Mischung aus 15 VT Ethylacetat *R* und 85 VT Toluol *R* verwendet. Nach dem Entwickeln über eine Strecke von 15 cm wird die Platte zuerst im UV-Licht bei 365 nm ausgewertet. Das Chromatogramm der Referenzlösung zeigt in der Mitte die blau fluoreszierende Zone des Methylantranilats und darunter die grünlichgelb fluoreszierende Bergapten-Zone. Das Chromatogramm der Untersuchungslösung darf keine dem Bergapten entsprechende Zone aufweisen. Eine Zone, die in Bezug auf Lage und Fluoreszenz dem Methylantranilat entspricht, ist vorhanden. Nach dem Besprühen mit Anisaldehyd-Reagenz *R* wird die DC-Platte wiederum im UV-Licht bei 365 nm ausgewertet. In der oberen Hälfte des Chromatogramms der Referenzlösung tritt die bräunlichorange fluoreszierende Zone des Linalylacetats auf, in der unteren Hälfte die in der

gleichen Farbe fluoreszierende Zone des Linalools. Das Chromatogramm der Untersuchungslösung zeigt die gleichen Banden. Weitere Zonen können vorhanden sein.

Zur Prüfung auf Identität werden die Hauptbestandteile Linalool und Linalylacetat durch Anfärben mit Anisaldehyd-Reagenz bestimmt. Zusätzlich wird die Anwesenheit der charakteristischen Spurenkomponente Methylantranilat überprüft. Diese fluoresziert bei 365 nm sehr stark und kann somit auch in den geringen Konzentrationen, wie sie die Monographie fordert, von 0,1 bis 1 % nachgewiesen werden. Die Prüfung auf Bergapten ist eine Reinheitsprüfung zum Ausschluß von Bitterorangenöl. Da die Gewinnung des Schalenöls durch Auspressen erfolgt, sind darin nichtflüchtige Cumarinderivate zu finden, die durch Fluoreszenz bei 365 nm detektiert werden können.

Der Nachweis der Identität des Bitterorangenblütenöls ist mit der aktuellen Prüfung möglich, daher wurde keine Verbesserung der DC-Methode erarbeitet. Zur definitiven Beurteilung der Identität und Qualität des ätherischen Öls muß die GC herangezogen werden. Auch die Verwendung weiterer Referenzsubstanzen oder anderer Sprühreagenzien bei der Anfertigung des DCs bringt keine Verbesserung mit sich. Die Prüfung auf "Bergapten" besitzt geringe praktische Relevanz, da Bitterorangenöl nur gelegentlich als Verschnitt des Blütenöls verwendet wird.

#### ***1.3.1.2 Achirale GC-Untersuchung von Bitterorangenblütenöl***

Die Monographie „Bitterorangenblütenöl“ der Ph. Eur. NT 2001 beschreibt unter „Chromatographisches Profil“ eine achirale GC-Methode mit einer stationären Phase aus einer Kapillarsäule aus Quarz mit einem ID von 0,25 mm, die mit Macrogol 20000 R belegt ist [2]. Die Länge kann variabel von 25 bis 60 m gewählt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde eine 60 m lange Macrogol-Säule eingesetzt (*Säule B*). Als Trägergas wird Helium bei einer Durchflußrate von 1,5 ml je Minute und ein Splitverhältnis von 1:100 vorgeschrieben. Als Untersuchungslösung werden 0,2 µl Öl unverdünnt eingesetzt. Um jedoch die Säule nicht zu überladen, wurden 20 µl in 1 ml Toluol gelöst und 1,0 µl dieser Mischung injiziert. Zur Herstellung der Referenzlösung werden 5 µl  $\alpha$ -Terpineol R, 5 µl Geranylacetat R, 5 µl Methylantranilat R, 5 µl Nerylacetat R, 5 µl Sabinen R, 5 µl *trans*-Nerolidol R, 20 µl  $\beta$ -Pinen R, 20 µl Linalylacetat R, 40 µl Limonen R und 40 µl Linalool R in 1 ml Hexan R gelöst. Davon werden 0,1 µl eingespritzt. Auch diese Vorschrift wurde in einer modifizierten Form

angewandt. Jeweils die doppelte Menge der Referenzsubstanzen wurde zu 10 ml mit Heptan *R* gelöst. 1,0 µl dieser geänderten Referenzlösung wurde eingespritzt. Die Temperatur der Säule wird 4 min bei 75 °C gehalten, dann um 4 °C je Minute auf 230 °C erhöht und 20 min bei 230 °C gehalten. Die Temperatur des Probeneinlasses und des Detektors wird bei 270 °C gehalten. Die Prüfung darf nur ausgewertet werden, wenn die Zahl der theoretischen Böden, errechnet aus dem Limonen-Peak bei 110 °C, mindestens 30000 und die Auflösung zwischen den Peaks von  $\beta$ -Pinen und Sabinen mindestens 1,5 beträgt.

**Tabelle 18:** Zusammensetzung von echten und künstlichen Bitterorangenblütenölen des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>N1</b>	6,60	11,56	55,22	1,74	4,08	0,95	1,88	3,60	0,11
<b>N2</b>	10,06	18,35	37,93	2,42	4,54	1,64	3,24	3,14	0,16
<b>N3</b>	14,57	12,94	40,05	3,48	3,96	1,53	2,57	5,54	0,18
<b>N4</b>	14,12	15,40	36,91	3,77	6,49	1,63	3,00	5,60	0,52
<b>N5</b>	4,33	6,98	50,16	6,91	4,32	1,88	3,67	1,09	0,10
<b>N6</b>	13,40	12,00	27,21	10,07	4,03	1,24	2,37	2,31	0,69
<b>N7</b>	16,53	14,30	31,11	11,10	4,82	1,39	2,60	2,63	0,53
<b>N8</b>	7,26	12,23	44,67	11,35	4,73	1,48	2,49	1,99	0,20
<b>N9</b>	0,96	13,72	19,34	29,26	2,19	1,19	1,37	0,13	3,67
<b>N10</b>	0,78	3,27	36,01	33,04	5,65	0,85	1,67	n.n.	0,99
<b>MW</b>	8,82	12,08	37,86	11,31	4,48	1,38	2,49	2,60	0,72
<b>N11</b>	0,07	0,58	65,36	17,74	0,25	0,22	0,40	6,04	1,72
<b>N12</b>	0,99	13,09	46,89	28,50	1,07	0,14	2,28	0,04	0,81
<b>N13</b>	0,24	0,71	25,90	57,61	6,29	1,50	1,76	n.n.	n.n.

Peak Nr.: 1:  $\beta$ -Pinen, 2: Limonen, 3: Linalool, 4: Linalylacetat, 5:  $\alpha$ -Terpineol, 6: Nerylacetat, 7: Geranylacetat, 8: *trans*-Nerolidol, 9: Methylantranilat; n.n. nicht nachweisbar.

Die Prozentgehalte ausgewählter Inhaltsstoffe werden mit dem Verfahren der Normalisierung ermittelt. Sie müssen innerhalb folgender Bereiche liegen:  $\beta$ -Pinen 7,0 bis 17,0 %, Limonen 9,0 bis 18,0 %, Linalool 18,0 bis 42,0 %, Linalylacetat 3,0 bis 16,0 %,  $\alpha$ -Terpineol 2,0 bis 7,0 %, *trans*-Nerolidol 2,0 bis 6,0 %, Geranylacetat 1,0 bis 3,0 %, Nerylacetat 0,5 bis 2,0 %, Methylantranilat 0,1 bis 1,0 %.

Nerylacetat 1,0 bis 3,0 %, Geranylacetat 1,5 bis 4,0 %, *trans*-Nerolidol 1,0 bis 9,0 % und Methylantranilat 0,1 bis 1,0 %.

Eine Anzahl von Neroliölen wurde entsprechend dieser Vorgaben analysiert und als echt, minderwertig oder künstlich bewertet (**Tab. 18**). Nur vier der zehn als „echt“ deklarierten Bitterorangenblütenöle konnten alle Anforderungen der Ph. Eur. NT 2001 erfüllen **N1**, **N5** und **N8** enthalten gemäß der Grenzwertforderungen deutlich zuviel Linalool. Untersuchungen an authentischen Proben haben jedoch gezeigt, daß sich der Gehalt an Linalool zwischen 33 und 60 % bewegt [68], also wesentlich höher ist als die vom Arzneibuch angegebenen Grenzwerte. Den Proben **N1** und **N2**, mit zu niedrigen Gehalten an Linalylacetat, liegen vermutlich zu lange Destillationszeiten zugrunde, was zu einem partiellen Abbau des Esters führte. Bei den Proben **N9** und **N10** liegt fast die doppelte Menge des erlaubten Linalylacetat-Höchstwertes vor. Hier wurde entweder synthetisches Linalylacetat zugesetzt oder Petitgrainöl beigemischt. Für eine Verfälschung beider Proben sprechen zudem die auffallend niedrigen Werte für  $\beta$ -Pinen, die zu niedrigen Anteile an Geranylacetat und *trans*-Nerolidol in **N9** und die zu geringen Gehalte an Limonen und Nerylacetat sowie das Fehlen von *trans*-Nerolidol in **N10**. Der hohe Wert für Methylantranilat in beiden Proben kann zum einen durch Verwendung von Bitterorangenblüten „Absolue“ oder durch Zusatz der synthetischen Substanz bedingt sein. „Absolue“ wird durch Lösungsmittlextraktion aus den Blüten gewonnen und weist daher eine vom destillierten Öl abweichende Zusammensetzung auf. Dies zeigt die Handelsprobe **N11**, bei der bis auf *trans*-Nerolidol alle Komponenten nicht den Vorgaben des Arzneibuchs entsprechen. Die Proben **N1** und **N5** weisen einen etwas zu niedrigen  $\beta$ -Pinen-Gehalt auf, **N5** zusätzlich zu wenig Limonen. Laut JUCHELKA [68] liegen diese Werte jedoch im Schwankungsbereich authentischer Bitterorangenblütenöle, weshalb eine Veränderung der Grenzbereiche für diese Komponenten in Erwägung gezogen werden sollte. Die künstlichen Neroliöle **N12** und **N13** können durch die achirale GC-Untersuchung leicht ausgeschlossen werden. Sie erfüllen die Anforderungen des Arzneibuchs nur für sehr wenige Inhaltsstoffe. Es wird vor allem zu wenig bzw. kein *trans*-Nerolidol gefunden, dafür sind die Anteile an Linalylacetat deutlich zu hoch.

Mit der achiralen GC-Methode der Ph. Eur. NT 2001 kann bereits ein Großteil der Handelsöle als minderwertig bzw. verfälscht eingestuft werden. Da jedoch auch Verfälschungspraktiken für Bitterorangenblütenöle bekannt sind, die nicht so leicht detektiert werden können, sollte

eine chirale Untersuchung der Handelsproben (s. u.) weiteren Aufschluß über die Qualität der Öle liefern.

**Tabelle 19:** Zusammensetzung von selbst destillierten Bitterorangenblütenölen  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Dest. Öl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>N14</b>	0,54	2,72	64,18	14,56	2,33	0,79	1,49	0,41	1,85
<b>N15</b>	0,76	1,77	67,89	9,40	4,92	0,92	1,92	0,48	3,64
<b>N16</b>	1,81	4,94	76,22	2,06	0,83	0,33	0,41	0,36	5,98

Peak Nr.: 1:  $\beta$ -Pinen, 2: Limonen, 3: Linalool, 4: Linalylacetat, 5:  $\alpha$ -Terpineol, 6: Nerylacetat, 7: Geranylacetat, 8: *trans*-Nerolidol, 9: Methylanthranilat.

Authentische Bitterorangenblüten, aus denen die Öle **N14** und **N15** gewonnen wurden, waren von zwei verschiedenen selbst gezogenen *Citrus aurantium* ssp. *aurantium*-Bäumchen geerntet worden. Sie konnten unmittelbar nach der Ernte der Destillation nach Ph. Eur. 1997 (2.8.12) unterworfen werden. Die Handelsöle werden durch Destillation mit Wasserdampf gewonnen, eine wesentlich schonendere Methode, die zu qualitativ hochwertigen Ölen führt. Es ist daher verständlich, daß sich die selbst destillierten Öle und die Handelsöle in der Zusammensetzung unterscheiden. Die Gehalte an  $\beta$ -Pinen, Limonen und Nerylacetat liegen teilweise weit unter den vom Arzneibuch geforderten Grenzwerten, der Linalool-Anteil liegt dagegen deutlich darüber. Die Probe **N16** wurde aus Blüten destilliert, die aus Korsika erhalten wurden und bei denen zwischen Ernte und Destillation ein Zeitraum von fünf Tagen lag. Der Zustand der Blüten war durch den Transport sichtlich beeinträchtigt worden, was sich in der Folge auch in der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung des ätherischen Öls bemerkbar machte (**Tab. 19**). Der Linalool-Gehalt liegt sehr hoch während nur mehr sehr wenig Linalylacetat, aber auch Geranylacetat und Nerylacetat zu finden sind. Auch  $\beta$ -Pinen, Limonen und  $\alpha$ -Terpineol weisen zu niedrige Werte auf. Bemerkenswert ist der trotz allem sehr gute *trans*-Nerolidol-Gehalt von 6 %. Die Zusammensetzung der Proben **N14** bis **N16** kann nicht als Anhaltspunkt für authentisches Neroliöl verwendet werden. Sie können jedoch bei der Untersuchung der Enantiomerenverteilung ausgewählter Inhaltsstoffe von Bitterorangenblütenöl gute Dienste leisten.

### 1.3.1.3 Chirale GC-Untersuchung von Bitterorangenblütenöl

Als Hauptproblem bei der chiralen GC-Untersuchung von Bitterorangenblütenöl erwies sich die Tatsache, daß nicht alle relevanten Enantiomerenpaare gleichzeitig auf der selben Säule getrennt werden können. Daher wurden die Neroliöle auf zwei unterschiedlichen  $\beta$ -Cyclodextrin-derivaten analysiert.

*Säule E* ist mit einem  $\beta$ -Cyclodextrinderivat belegt, das an Position 2 und 3 einen Diacetylrest und an Position 6 einen tert-Butyldimethylsilylrest trägt. Die GC-Bedingungen und das Temperaturprogramm wurden von der Methode des Änderungs-Entwurfs für Lavendelöl übernommen (vgl. 3.4.1.3). Damit war es möglich, die Enantiomerenpaare von Linalool, Linalylacetat und  $\alpha$ -Terpineol zu trennen (**Tab. 20, 21**).

**Tabelle 20:** Enantiomerenverteilung von Linalool, Linalylacetat und  $\alpha$ -Terpineol in Bitterorangenblütenölen des Handels

GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (*Säule E*)

Handelsöl Int. Ch.:	R(-)-Linalool : S(+)-Linalool	R(-)-Linalylacetat : S(+)-Linalylacetat	(-)- $\alpha$ -Terpineol : (+)- $\alpha$ -Terpineol
<b>N1</b>	78,3 : 21,7	100,0 : 0,0	34,1 : 65,9
<b>N2</b>	71,3 : 28,7	100,0 : 0,0	29,1 : 70,9
<b>N3</b>	53,9 : 46,1	50,9 : 49,1	82,3 : 17,7
<b>N4</b>	59,1 : 40,9	92,8 : 7,2	66,6 : 33,4
<b>N5</b>	84,0 : 16,0	99,7 : 0,3	27,3 : 72,7
<b>N6</b>	78,9 : 21,1	97,7 : 2,3	34,5 : 65,5
<b>N7</b>	78,4 : 21,6	98,6 : 1,4	29,2 : 70,8
<b>N8</b>	79,7 : 20,3	98,6 : 1,4	28,1 : 71,9
<b>N9</b>	63,6 : 36,4	73,2 : 26,8	37,4 : 62,6
<b>N10</b>	69,3 : 30,7	86,1 : 13,9	37,7 : 62,3
<b>N11</b>	91,4 : 8,6	97,1 : 2,9	68,0 : 32,0
<b>N12</b>	51,5 : 48,5	58,7 : 41,3	42,1 : 57,9
<b>N13</b>	71,9 : 28,1	98,9 : 1,1	63,8 : 36,2

Wie oben bereits beschrieben kann die Enantiomerenverteilung von Linalool nur bedingt als Indikator für authentisches Bitterorangenblütenöl eingesetzt werden. Erst ab einem S(+)-Linalool-Gehalt von mehr als 30 %, bezogen auf den Gesamtgehalt an Linalool, kann von einem verfälschten Öl ausgegangen werden. Dies ist bei den Proben **N4**, **N9** und **N10** der Fall (**Tab. 20**). Das Racemat von Linalool liegt bei dem Handelsöl **N3** und bei dem künstlichen Neroliöl **N12** vor. Da die Enantiomerenreinheit von Linalylacetat weder durch Destillation, noch durch Lagerung beeinflusst wird, kann sie als zuverlässiger Marker für verfälschte Öle genutzt werden. Liegen die Anteile des S(+)-Isomers, bezogen auf den Gesamtgehalt an

Linalylacetat, über 5 %, wurde synthetisches *rac.* Linalylacetat zugesetzt. Der Gehalt an S(+)-Linalylacetat in den Handelsölen **N4**, **N9** und **N10** liegt deutlich über der 5 %-Schwelle. **N3** enthält zwar insgesamt nur 3,48 % Linalylacetat, aber wie beim Linalool das Racemat. Vermutlich liegt hier ein vollständig künstliches Bitterorangenblütenöl, das als ‘echtes’ deklariert war, vor. Das künstliche Öl **N12** weist einen sehr hohen Prozentsatz der S-Form bei insgesamt 28,5 % Linalylacetat auf. Die künstliche Ölprobe **N13** hingegen weist einen hohen Linalylacetat-Gesamtgehalt von 57,6 % auf, wovon knapp 99 % auf die R(-)-Form entfallen. Dieses künstliche Öl wurde wahrscheinlich durch Zusatz von Petitgrainöl hergestellt. Als weiteres Kriterium zur Beurteilung der Authentizität kann die Enantiomerenverteilung von  $\alpha$ -Terpineol gewertet werden.  $\alpha$ -Terpineol ist in genuinem Neroliöl nur in Spuren zu finden, es wird vorwiegend während der Wasserdampfdestillation gebildet. Erstaunlicherweise erfolgt dies in einem recht konstanten Verhältnis von (-):(+) von 2:8 bis 3:7. In authentischen Ölen übersteigt der (-)- $\alpha$ -Terpineol-Anteil, bezogen auf Gesamt- $\alpha$ -Terpineol, nicht den Wert von 35 % [68,75.]. Diese Forderung können wiederum die Proben **N3**, **N4**, **N9** und **N10** nicht erfüllen. Auch die Enantiomerenverteilung der beiden künstlichen Öle **N12** und **N13**, aber auch die Probe **N11**, das „Absolue“-Öl, weichen von der Höchstgrenze von 35 % ab.

**Tabelle 21:** Enantiomerenverteilung von Linalool, Linalylacetat und  $\alpha$ -Terpineol in selbst destillierten Bitterorangenblütenölen

GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule E)

Dest. Öl Int. Ch.:	R(-)-Linalool : S(+)-Linalool	R(-)-Linalylacetat : S(+)-Linalylacetat	(-)- $\alpha$ -Terpineol : (+)- $\alpha$ -Terpineol
<b>N14</b>	93,2 : 6,8	100,0 : 0,0	21,9 : 78,1
<b>N15</b>	87,6 : 12,4	99,5 : 0,5	27,4 : 72,6
<b>N16</b>	88,3 : 11,7	99,4 : 0,6	60,2 : 39,8

Die Untersuchung der Enantiomeren von Linalool, Linalylacetat und  $\alpha$ -Terpineol in den selbst destillierten Proben (**Tab. 21**) ergibt für **N14** und **N15** eine optimale Verteilung. **N16** entspricht in bezug auf Linalool und Linalylacetat den Literaturwerten [68]. Der „Ausreißer“ bei der Enantiomerenverteilung von  $\alpha$ -Terpineol ist auf die lange Transportzeit vor der Destillation zurückzuführen. Vermutlich waren in dem frischen Pflanzenmaterial Enzyme aktiv, die diese Veränderung bewirkten.

Säule G ist mit einem  $\beta$ -Cyclodextrinderivat belegt, bei dem die OH-Gruppe an Position 2 und 6 mit Methylresten und die OH-Gruppe an Position 3 mit einem Pentylrest verethert ist. Die Länge der Säule beträgt 50 m bei einem ID von 0,25 mm. Als Trägergas wird Helium mit einer



Durchflußrate von 1,5 ml je Minute und ein Splitverhältnis von 1:100 verwendet. Die Temperatur der Säule wird 25 min lang bei 90 °C gehalten, dann mit einer Rate von 2 °C je Minute auf 180 °C erhöht und 10 min lang bei 180 °C gehalten. Die Temperatur des Probeneinlasses wird bei 240 °C und die des Detektors bei 220 °C gehalten. Mit dieser Methode werden die Enantiomerenpaare von Limonen, Linalool,  $\alpha$ -Terpineol und *trans*-Nerolidol getrennt (**Tab. 22, 23**)

**Tabelle 22:** Enantiomerenverteilung von Limonen und *trans*-Nerolidol in Bitterorangenblütenölen des Handels  
GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule G)

Handelsöl Int. Ch.:	(-)-Limonen : (+)-Limonen	(-)- <i>trans</i> -Nerolidol : (+)- <i>trans</i> -Nerolidol
<b>N1</b>	5,2 : 94,8	1,7 : 98,3
<b>N2</b>	0,0 : 100,0	1,2 : 98,8
<b>N3</b>	4,6 : 95,4	2,8 : 97,2
<b>N4</b>	0,0 : 100,0	3,0 : 97,0
<b>N5</b>	0,0 : 100,0	2,8 : 97,2
<b>N6</b>	6,4 : 93,6	2,0 : 98,0
<b>N8</b>	4,4 : 95,6	1,6 : 98,4
<b>N9</b>	2,8 : 97,2	23,1 : 76,9
<b>N10</b>	19,6 : 80,4	0,0 : 100,0
<b>N11</b>	0,0 : 100,0	0,4 : 99,6
<b>N13</b>	27,4 : 72,6	-

Limonen wurde in allen Proben, ausgenommen **N10**, mit deutlichem Überschuß des R(+)-Enantiomers gefunden (**Tab. 22**). Bei der künstlichen Probe **N13** sind sogar knapp 30 % S(-)-Limonen detektierbar. Die Zuordnung der *trans*-Nerolidol-Enantiomere stellte ein Problem dar, da die einzelnen Enantiomeren nicht im Handel erhältlich sind. Mit der semisynthetischen Synthese nach SCHUBERT ET AL. [76] konnte reines (+)-*trans*-Nerolidol gewonnen werden und somit war die Peakzuordnung möglich. Außer in Probe **N9**, überwiegt in allen Proben deutlich das (+)-Enantiomer. Die Probe **N9** enthält insgesamt nur 0,13 % *trans*-Nerolidol und entsprach daher in diesem Punkt bereits bei der achiralen Untersuchung nicht dem Ph. Eur. NT 2001, das 1,0 bis 9,0 % fordert. Nach MOSANDL darf der Anteil an (-)-*trans*-Nerolidol nicht mehr als 2 %, berechnet auf den Gesamtgehalt, betragen [69]. Die Proben **N3** bis **N5** liegen mit 2,8 bzw. 3,0 % geringfügig darüber.

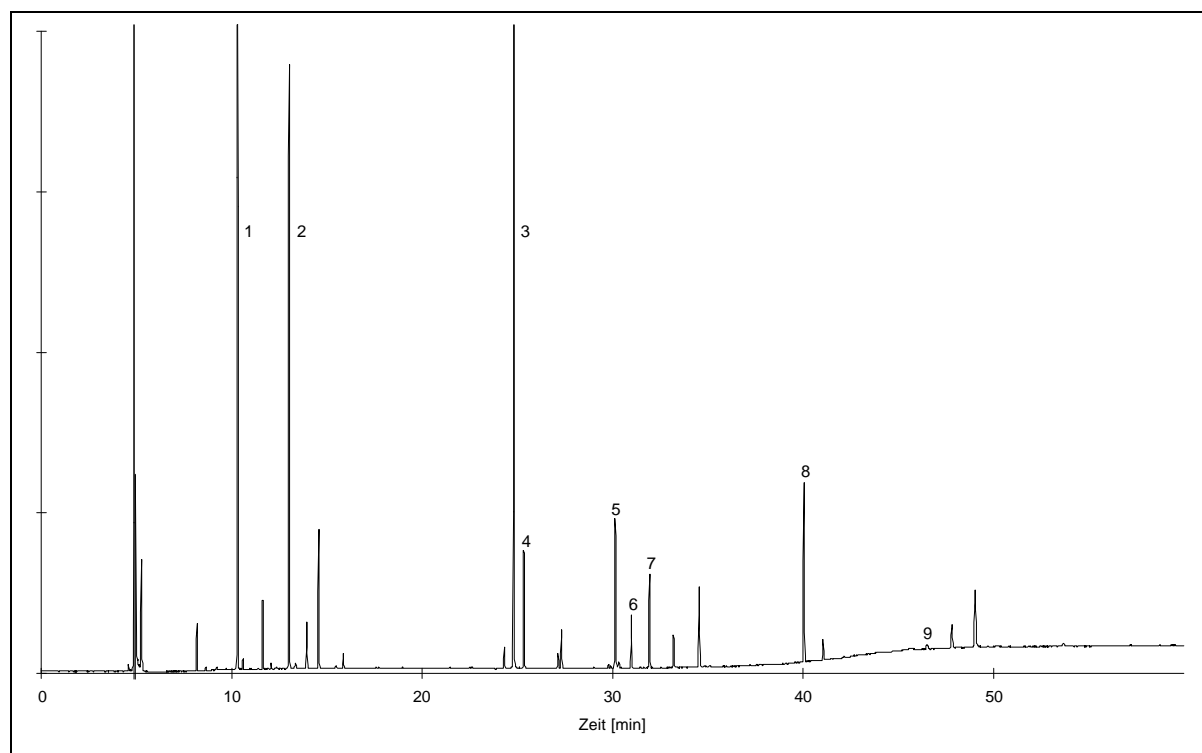
**Tabelle 23:** Enantiomerenverteilung von Limonen und *trans*-Nerolidol in selbst destillierten Bitterorangenblütenölen  
GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule G)

Dest. Öl Int. Ch.:	(-)-Limonen : (+)-Limonen	(-)- <i>trans</i> -Nerolidol : (+)- <i>trans</i> -Nerolidol
<b>N14</b>	0,0 : 100,0	0,0 : 100,0
<b>N15</b>	0,0 : 100,0	0,0 : 100,0
<b>N16</b>	0,0 : 100,0	1,8 : 98,2

Die Untersuchung der selbst destillierten Öle (**Tab. 23**) bestätigen die Beobachtungen bei den Handelsölen (**Tab. 22**). Alle drei Proben enthalten ausschließlich R(+)-Limonen, die Proben **N14** und **N15** auch ausschließlich (+)-*trans*-Nerolidol. Die Probe **N16**, die aus minderwertigem Ausgangsmaterial gewonnen wurde, weist 1,8 % (-)-*trans*-Nerolidol auf, ein immer noch akzeptabler Wert.

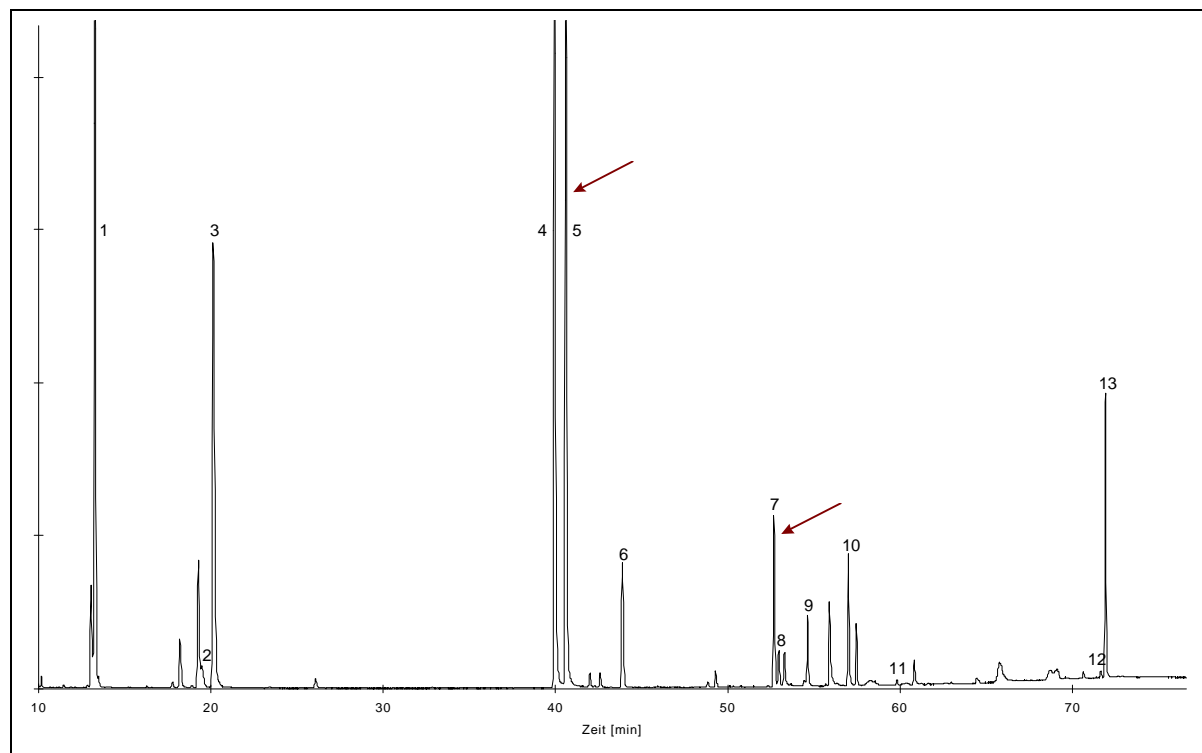
Durch die chirale Untersuchung der Bitterorangenblütenöle konnten zwei Proben (**N3** und **N4**) als verfälscht identifiziert werden, die bei der achiralen Untersuchung exakt den Anforderungen der Ph. Eur. NT 2001 entsprochen hätten. Es wurde ein zu hoher Anteil an S(+)-Linalool, S(+)-Linalylacetat, (-)- $\alpha$ -Terpineol und (-)-*trans*-Nerolidol gefunden. Der Vergleich des achiralen (**Abb. 14**) mit dem chiralen (**Abb. 15**) Gaschromatogramm zeigt deutlich die Verfälschung mit Linalool und  $\alpha$ -Terpineol (Markierung mit Pfeil).

**Abb. 14** Gaschromatogramm eines verfälschten Bitterorangenblütenöls (**N3**), aufgezeichnet nach der aktuellen Ph.-Eur.-Methode



Peak Nr.: 1:  $\beta$ -Pinen, 2: Limonen, 3: Linalool, 4: Linalylacetat, 5:  $\alpha$ -Terpineol, 6: Nerylacetat, 7: Geranylacetat, 8: *trans*-Nerolidol, 9: Methylanthranilat.

**Abb. 15** Gaschromatogramm eines verfälschten Bitterorangenblütenöls (**N3**), aufgezeichnet auf der chiralen Säule *G*



Peak Nr.: 1:  $\beta$ -Pinen, 2: (-)-Limonen, 3: (+)-Limonen, 4: (-)-Linalool, 5: (+)-Linalool, 6: Linalylacetat, 7: (-)- $\alpha$ -Terpineol, 8: (+)- $\alpha$ -Terpineol, 9: Nerylacetat, 10: Geranylacetat, 11: Methylanthranilat, 12: (-)-*trans*-Nerolidol, 13: (+)-*trans*-Nerolidol.

#### 1.3.1.4 Diskussion der Monographie-Änderung

Für die Änderung des „Chromatographischen Profils“ der Monographie „Bitterorangenblütenöl“ wurde die chirale *Säule D* mit der entsprechenden Methode gewählt. Dadurch muß auf die Trennung der Linalylacetat-Enantiomeren zugunsten der Trennung der *trans*-Nerolidol-Enantiomeren verzichtet werden. Linalylacetat kommt zwar in hoher Enantiomerenreinheit im Neroliöl vor, jedoch sollten nur 3 bis 16 % enthalten sein. Unerlaubte Zusätze von *rac.* Linalylacetat sollten deshalb in der Regel bereits durch Überschreitung der Höchstgrenze erkennbar sein.

In den nicht verfälschten Proben wurde vorwiegend R(+)-Limonen gefunden. Bis zu einem S(-)-Limonen-Anteil von 15 %, bezogen auf Gesamt Limonen, ist die Authentizität gewährleistet, dieser Wert wurde in den Entwurf übernommen. Höhere Werte wurden in minderwertigen oder mit *rac.* Limonen verfälschten Ölen gefunden. Für Linalool wurde eine Verschiebung des Grenzbereichs auf 27,0 bis 60,0 % vorgeschlagen, da Untersuchungen an authentischen Proben diese Werte ergaben [68]. Die im aktuellen Arzneibuch geforderte Grenzspanne ist etwas zu niedrig gewählt. Zusätzlich wurde ein Maximum von höchstens 30 % S(+)-Linalool, bezogen auf Gesamt-Linalool vorgeschlagen. Die charakteristische Neroliöl-Komponente *trans*-Nerolidol muß mindestens zu 98 % in der (+)-Form vorliegen. Es wurden nicht mehr als 2 % (-)-*trans*-Nerolidol in authentischen Proben gefunden. Die Elutionsfolge muß durch Definition festgelegt werden, da keine reinen Enantiomere im Handel erhältlich sind. Von  $\alpha$ -Terpineol, einem weiteren Echtheitsparameter von Bitterorangenblütenöl, sollten höchstens 35 % als (-)-Isomer vorliegen. Für  $\beta$ -Pinen wurde entsprechend eigener Untersuchungen und Literaturwerten eine Ausweitung des Grenzbereichs auf 4,0 bis 17,0 % empfohlen.

Diese neue GC-Methode stellt eine deutlich Verbesserung der Qualitäts- und Authentizitätsbeurteilung von Bitterorangenblütenölen dar. Verfälschte Proben konnten damit erkannt werden. Sie stößt jedoch auch an ihre Grenzen, da nicht alle relevanten Inhaltsstoffe gleichzeitig chiral aufgetrennt werden können und deshalb auf die Bestimmung der Linalylacetat-Enantiomere verzichtet werden muß. Zum anderen ist die Enantiomerenverteilung von Linalool nicht so aussagekräftig wie bei diversen anderen ätherischen Ölen, da R(-)-Linalool eine starke Tendenz zur Racemisierung während der Destillation zeigt.

### 1.3.2 Petitgrainöl

Petitgrainöl *Bigarade* ist das durch Wasserdampfdestillation aus den frischen Zweigen und Blättern sowie teilweise kleinen Früchten von *Citrus aurantium* L. ssp. *aurantium* gewonnene ätherische Öl. Ein Petitgrainöl minderer Qualität wird in Paraguay aus den Blättern und Trieben der sauerbitteren Orange, auch als Unterart *Naranja I* bezeichnet, und der halbsüßen Orange, auch bekannt als die Unterart *Ajepu*, gewonnen [71,77].

Petitgrainöl wird praktisch nur in der Parfümherstellung, als kostengünstiger Ersatz für Neroliöl, verwendet. Der Geruch und die chemische Zusammensetzung von Neroliöl und Petitgrainöl sind ähnlich. Neben Linalool ist Linalylacetat die zweite Hauptkomponente, die bis zu etwa 60 % enthalten ist [68,71]. Petitgrainöle weisen mehr  $\alpha$ -Terpineol, weniger  $\beta$ -Pinen, Limonen und nur Spuren von trans-Nerolidol, verglichen mit den Blütenölen, auf.

#### 1.3.2.1 Achirale GC-Untersuchung von Petitgrainöl

Da Petitgrainöl häufig als Verfälschung von Bitterorangenblütenöl eingesetzt wird, wurde die Zusammensetzung einiger Handelsöle gaschromatographisch untersucht. Die achirale Untersuchung wurde analog den Vorgaben der Bitterorangenblütenöl-Monographie auf einer Macrogol-Säule durchgeführt (3.3.1.2).

**Tabelle 24:** Zusammensetzung von Petitgrainölen des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
PG1	0,71	19,12	13,07	39,21	3,19	1,17	1,99	0,03	0,03
PG2	0,67	17,73	14,47	42,11	3,27	1,23	2,12	n.n.	0,03
PG3	1,41	5,13	22,35	45,41	5,44	1,79	3,20	0,07	0,05
PG4	1,83	1,71	33,18	43,80	5,19	1,66	2,92	0,12	n.n.
MW	1,16	10,92	20,77	42,63	4,27	1,46	2,56	0,06	0,03

Peak Nr.: 1:  $\beta$ -Pinen, 2: Limonen, 3: Linalool, 4: Linalylacetat, 5:  $\alpha$ -Terpineol, 6: Nerylacetat, 7: Geranylacetat, 8: trans-Nerolidol, 9: Methylantranilat; n.n. nicht nachweisbar.

Die untersuchten Petitgrainöle (**Tab. 24**) weisen einen deutlich höheren Linalylacetat-Gehalt als Neroliöle auf. Methylantranilat und trans-Nerolidol kann nur in Spuren bzw. gar nicht detektiert werden. Auch  $\beta$ -Pinen liegt nur in geringen Anteilen vor. **PG1** und **PG2** weisen für Petitgrainöl überdurchschnittlich viel Limonen, dagegen relativ wenig Linalool auf. Möglicherweise liegt hier ein Verschnitt mit synthetischem Limonen vor.

Vor allem durch das fast vollständige Fehlen von trans-Nerolidol und Methylantranilat und die wesentlich geringeren  $\beta$ -Pinen-Anteile sowie den hohen Linalylacetat-Gehalt können reine Petitgrainöle durch Untersuchung auf einer achiralen Macrogol-Säule problemlos von echten Neroliölen unterschieden werden.

### 1.3.2.2 Chirale GC-Untersuchung von Petitgrainöl

Ergänzend wurden die Petitgrainöle auch einer chiralen Untersuchung auf *Säule C* unterzogen. Die Analysenbedingungen sind unter **3.3.1.3** aufgeführt. Die Enantiomerenverteilung von Linalool, Linalylacetat und  $\alpha$ -Terpineol verhält sich analog Bitterorangenblütenöl. Linalool neigt während der Wasserdampfdestillation zur Racemisierung, während R(-)-Linalylacetat sehr stabil ist und in hoher Enantiomerenreinheit nachgewiesen werden kann. (-) und (+)- $\alpha$ -Terpineol treten in einem Verhältnis von etwa 3:7 auf [75,78].

**Tabelle 25:** Enantiomerenverteilung von Linalool, Linalylacetat und  $\alpha$ -Terpineol in Petitgrainölen des Handels; GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (*Säule E*)

Handelsöl Int. Ch.:	R(-)-Linalool : S(+)-Linalool	R(-)-Linalylacetat : S(+)-Linalylacetat	(-)- $\alpha$ -Terpineol : (+)- $\alpha$ -Terpineol
<b>PG1</b>	67,6 : 32,4	80,7 : 19,3	25,4 : 74,6
<b>PG2</b>	70,4 : 29,6	80,7 : 19,3	22,3 : 77,7
<b>PG3</b>	84,2 : 15,8	97,6 : 2,4	32,0 : 68,0
<b>PG4</b>	79,6 : 20,4	99,8 : 0,2	25,2 : 74,8

Die Ergebnisse von **PG3** und **PG4** stimmen mit den Literaturwerten überein (**Tab. 25**). Bei **PG1** und **PG2** bestätigt sich der Verdacht der Verfälschung, da mit 19,3 % deutlich zuviel S(+)-Linalylacetat enthalten ist. Zudem werden auch zu hohe Werte für S(+)-Linalool gefunden. Die chirale GC-Untersuchung zeigt, daß Petitgrainöle in etwa die gleiche Enantiomerenverteilung wie Bitterorangenblütenöle aufweisen. Verschnitte von Neroliölen mit Petitgrainöl können auf diese Weise nicht erkannt werden.

## 1.4 Ätherische Öle der Lamiaceae

Zur Familie der Lippenblütler, früher auch Labiaten genannt, zählen hauptsächlich krautige Pflanzen, seltener Holzpflanzen. Als charakteristische botanische Merkmale sind der vierkantige Stengel und die stark zygomorphen, meist zweilippigen Blüten zu nennen. Viele Lamiaceen enthalten ätherisches Öl mit Mono- und Sesquiterpenen in Drüsenhaaren und/oder charakteristischen Drüsenschuppen (sog. Labiaten- oder Lamiaceendrüsenschuppen). Das ätherische Öl ist in den oberirdischen Pflanzenteilen, vor allem Blättern und Blüten, lokalisiert. Daneben findet man diterpenoide Bitterstoffe und Lamiaceengerbstoffe. Als Arzneipflanzen verwendet werden die Lamiaceen vornehmlich wegen der ätherischen Öle, als Küchengewürz, wegen ihres aromatischen, appetitanregenden Geruchs und Geschmacks sowie in der Parfümherstellung. Als in der Praxis bedeutsame ätherisch-Öl-Lieferanten sind Melisse, Pfefferminze, Rosmarin, Salbei, Lavendel, Basilikum, Majoran und Thymian zu nennen. [28,29].

### 1.4.1 Lavendelöl

Lavendelöl ist das durch Destillation mit Wasserdampf gewonnene ätherische Öl aus den frischen Blütenständen von *Lavandula angustifolia* MILLER (*Lavandula officinalis* CHAIX) [2]. Es handelt sich um eine klare, farblose bis schwach gelbe Flüssigkeit von charakteristischem Geruch, der vor allem durch Linalool und Linalylacetat bestimmt wird.

Neben der antibakteriellen Wirkung spielen in der Anwendung von Lavendelöl vor allem die beruhigenden, spasmolytischen und blähungstreibenden Eigenschaften eine Rolle. Die Wirkungen von Lavendelöl sind vorrangig auf Linalool zurückzuführen [79]. Die sedierende Wirkung nach Inhalation wurde im Tierversuch nachgewiesen [80]. Zudem wird es als Repellent eingesetzt. Lavendelöl ist Bestandteil vieler Badezusätze. Die wichtigsten Gebiete für die Verwendung von Lavendelöl sind jedoch die Parfüm- und die Kosmetikherstellung. In der Aromatherapie gilt Lavendelöl als das am meisten verwendete ätherische Öl [81].

Echtes Lavendelöl ist relativ teuer (ca. 85 €/kg [53]) und wird deshalb sehr häufig verfälscht. Der echte Lavendel, *Lavandula angustifolia* MILLER, auch kleiner Speik genannt, wächst in

Hochlagen ab 600 m über dem Meeresspiegel der europäischen Mittelmeerländer, vor allem in Frankreich [82]. Unterhalb dieser Höhe gedeihen der große Speik, *Lavandula latifolia* MEDIK., und die natürliche Kreuzung von *Lavandula angustifolia* mit dem großen Speik, *Lavandula intermedia* EMERIC. EX LOISEL.

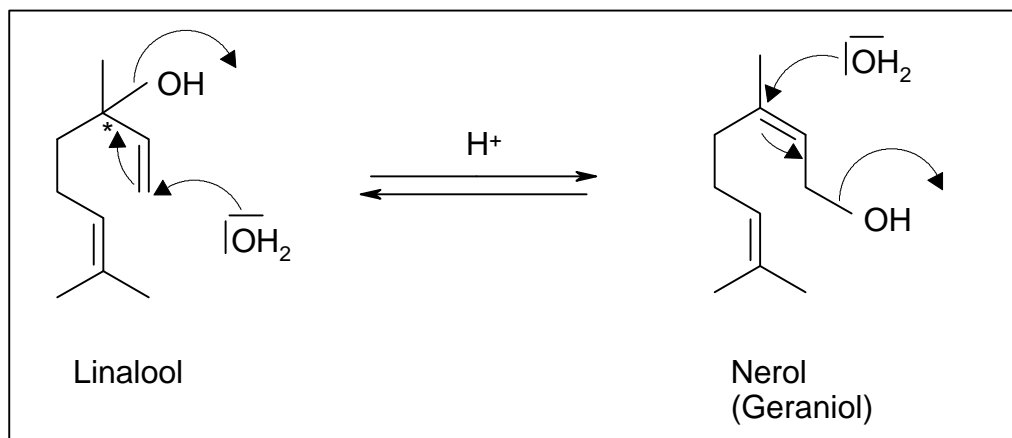
Die Hauptinhaltsstoffe von echtem Lavendelöl sind Linalool und Linalylacetat. Das aus dem großen Speik gewonnene Spiköl enthält vor allem Linalool, Cineol und Campher und ist daher als Verfälschung für echtes Lavendelöl wenig geeignet. Lavandin ist nicht nur botanisch, sondern auch von Seiten der Inhaltsstoffe eine Kreuzung beider Sträucher. Der Hauptinhaltsstoff von Lavandinöl ist Linalool, gefolgt von Linalylacetat, Campher und Cineol. Verfälschungen von echtem Lavendelöl durch Lavandinöl, oder auch acetyliertem Lavandinöl sind häufig vorkommend, da Lavandinöl um ca. ein Fünftel billiger ist [53] und wesentlich größere Mengen davon produziert werden [83]. Der Nachweis einer derartigen Verfälschung ist über den erhöhten Campher- und Cineolgehalt möglich. Eine weitere sehr häufig praktizierte Verfälschung ist der Zusatz von synthetischem oder semisynthetischem Linalool und/oder Linalylacetat [84]. Linalool ist ein Zwischenprodukt bei der Vitamin E-Synthese und kann in großtechnischem Maßstab günstig hergestellt werden [11].

Linalool und Linalylacetat machen zusammen ca. 65-80 % der Inhaltsstoffe des echten Lavendelöls aus. Der Ester des Linalools gilt als wertbestimmende Komponente und wurde ursprünglich (DAB 1998) bei der Gehaltsbestimmung zusammen mit anderen Estern nach Verseifung quantitativ erfaßt. Bei der Gewinnung des ätherischen Öls kann es zu einer teilweisen Hydrolyse von Linalylacetat mit nachfolgender Bildung von Linalool kommen [85]. Ein esterreiches Öl höchster Qualität mit hohen Ausbeuten kann nur durch eine rasche Destillation der frischen Blüten mit Wasserdampf erhalten werden [82]. Lavandulol und Lavandulylacetat sowie 3-Octanon sind charakteristische Bestandteile von Lavendelöl, die in Lavandinöl und Spiköl nicht oder nur mehr in Spuren vorhanden sind. Weitere Komponenten sind Limonen, Cineol, Campher, Terpinen-4-ol und  $\alpha$ -Terpineol. Daneben sind  $\beta$ -Ocimen,  $\beta$ -Caryophyllen, Nerol und Geraniol mit ihren Estern und  $\alpha$ -Pinen in Anteilen bis zu 2 % enthalten [74,84].



Linalool und Linalylacetat entstehen biogenetisch im Lavendel praktisch ausschließlich in der R-Form [86]. Linalool weist in saurem Medium eine gewisse Instabilität auf. Dies liegt an der pH-abhängigen reversiblen Umlagerung zu Geraniol/Nerol, die zu einem gewissen Grad im Sauren stattfindet (**Abb. 16**) [68].

**Abb. 16** Säurekatalysierte Hydratisierung - Dehydratisierung von Linalool



Da der pH-Wert im Destillationssumpf in der Regel im sauren Bereich liegt, resultiert hieraus eine partielle Racemisierung, so daß bis zu 10 % des S-Isomers gebildet werden können [87]. Daher sollte die Dauer der Destillation 1 h nicht wesentlich überschreiten. Linalylacetat ist im Gegensatz zu Linalool bei der Ölgewinnung stereochemisch stabil, jedoch wird der Estergehalt durch kurze Destillationszeiten begünstigt (s. o.). In authentischen Lavendelölen dürfen, auch nach längerer Destillation oder Lagerung, nicht mehr als etwa 4 % S-Linalylacetat nachweisbar sein. Dies bedeutet, daß in qualitativ hochwertigen Ölen Linalylacetat, aber auch Linalool in hoher Enantiomerenreinheit enthalten sein müssen [88-90]. Eine häufige Verfälschungspraxis ist der Zusatz semisynthetisch oder synthetisch hergestellter Racemate von Linalool und/oder Linalylacetat. Der Nachweis von Synthesenebenprodukten gestaltet sich schwierig, da es sich einerseits um Substanzen handelt, die im Lavendelöl an sich enthalten sind, andererseits ist die Reinheit von synthetischem Linalool und Linalylacetat in den letzten Jahren verbessert worden. Der früher über Dihydro- und Dehydrolinalool geführte Nachweis [84] ist praktisch nicht mehr möglich. Mit Hilfe der optischen Reinheit kann jedoch die Authentizität eines Lavendelöls belegt werden.

#### 1.4.1.1 DC-Untersuchung von Lavendelöl

Im Rahmen der Untersuchung von Lavendelölen wurde keine dünnschichtchromatographische Untersuchung durchgeführt. Die aktuelle Monographie der Ph. Eur. 2001 schreibt die Prüfung auf Identität von Lavendelöl unter anderem durch DC vor. Das DC wird auf einer mit Kieselgel beschichteten Platte durchgeführt. Als Fließmittel wird eine Mischung aus 95 VT Toluol *R* und 5 VT Ethylacetat *R* eingesetzt. Für die Untersuchungslösung werden 20 µl Öl in 1 ml Toluol *R* gelöst, für die Referenzlösung werden jeweils 10 µl Linalool *R* und Linalylacetat *R* in 1 ml Toluol *R* gelöst. Es werden getrennt 10 µl jeder Lösung bandförmig aufgetragen. Die Entwicklung erfolgt 2mal im Abstand von 5 min über eine Laufstrecke von 10 cm. Die Platte wird an der Luft trocknen gelassen, mit Anisaldehyd-Reagenz *R* besprüht und 5 bis 10 min lang bei 100 bis 105 °C erhitzt. Die Auswertung erfolgt im Tageslicht. Die violett gefärbte Zone des Linalools erscheint in der unteren Hälfte, die ebenfalls violett gefärbte Zone des Linalylacetats etwas oberhalb der Mitte. Im Chromatogramm der Untersuchungslösung treten unterhalb der Zone des Linalools gewöhnlich noch 2 bis 5 weitere, bräunlichgrün oder violettrot gefärbte Zonen auf. Über der Zone des Linalools sowie im Bereich der Fließmittelfront sind noch weitere violettrot gefärbte Zonen sichtbar. Zwischen der Zone des Linalools und der darüberliegenden, violettrot gefärbten Zone des Caryophyllenepoxids kann eine schwache, violettbraune, vom Cineol stammende Zone sichtbar sein (**Abb. 17**).

**Abb. 17** Schematische Darstellung eines typischen Lavendelöl-DCs auf Kieselgel nach Ph. Eur. NT 2001

Oberer Plattenrand	
Linalylacetat: eine violette Zone	Eine violette Zone (Linalylacetat) Eine violettrote Zone (Caryophyllenepoxid) Eventuell eine schwache violettbraune Zone (Cineol)
Linalool: eine violette Zone	Eine violette Zone (Linalool) Eine intensive braungrüne Zone Gewöhnlich 2 bis 4 braungrüne oder violettrote Zonen
Referenzlösung	Untersuchungslösung

Mit dieser Methode werden die beiden Hauptinhaltsstoffe Linalool und Linalylacetat erfaßt. Die Prüfung ist nicht spezifisch für Lavendelöl, da es eine Anzahl weiterer ätherischer Öle mit eben diesen Hauptinhaltsstoffen gibt. Cineol ist in der Beschreibung aufgeführt und als schwache Zone erlaubt. Damit wird die Abgrenzung zum geruchlich ähnlichen Lavandinöl erleichtert. Die Aufnahme weiterer Referenzsubstanzen in die Referenzlösung führt zu keiner Verbesserung der Methode, da die Konzentration der für die Beurteilung wesentlichen Komponenten unter der jeweiligen Nachweisgrenze liegt (Campher, Lavandulylacetat, Lavandulol). Die DC-Methode bietet zwar eine rasche Orientierungshilfe bei der Identitätsbestimmung, Aussagen zur Authentizität und Qualität des Lavendelöls sind jedoch nur sehr begrenzt möglich.

#### ***1.4.1.2 Achirale GC-Untersuchung von Lavendelöl***

Die Ph. Eur. NT 2001 enthält eine Monographie für Lavendelöl [2]. Durch diese seit 1999 bestehende europäische Monographie wurden die nationalen Monographien, unter anderem auch die deutsche, ersetzt. Als Neuerung gegenüber dem DAB 1998 enthält diese Monographie zusätzlich zur DC ein chromatographisches Profil zur Prüfung auf Reinheit und Gehalt sowie zur Bestimmung der Identität.

Für diese GC-Prüfung wird eine Fused-Silica-Kapillarsäule von 60 m Länge und etwa 0,25 mm ID, belegt mit Macrogol 20000 beschrieben, als Trägergas Helium bei einer Durchflußrate von 1,5 ml/min und ein Splitverhältnis von etwa 1:100. Die Temperatur des Injektors und des Detektors wird jeweils bei 220 °C gehalten. Die Temperatur der Säule wird 15 min lang bei 70 °C gehalten, dann mit einer Heizrate von 2 °C je Minute auf 180 °C erhöht. Mittels Normalisierung wird der Gehalt an Limonen, Cineol, 3-Octanon, Campher, Linalool, Linalylacetat, Terpinen-4-ol, Lavandulylacetat, Lavandulol und  $\alpha$ -Terpineol berechnet. Es muß gewährleistet sein, daß die Auflösung zwischen den Peaks von Limonen und Cineol mindestens 1,5 beträgt und die Zahl der theoretischen Böden, berechnet für den Limonen-Peak bei 110 °C, mindestens 30 000. In **Tabelle 26** sind die Ergebnisse der Lavendel-Handelsöle nach dieser Methode dargestellt.

**Tabelle 26:** Zusammensetzung verschiedener echter Lavendelöle des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L1	3,96	0,88	0,24	1,28	29,30	52,47	0,73	0,71	0,11	0,42
L2	0,48	0,88	0,90	0,23	32,12	37,57	3,01	3,10	0,59	0,78
L3	0,27	0,15	0,71	0,50	38,88	40,65	0,44	0,67	0,13	1,14
L4	0,31	0,60	0,65	0,62	36,58	35,01	1,45	0,96	0,13	1,90
L5	0,18	0,34	1,42	0,35	35,11	40,94	1,40	2,65	0,58	0,14
L6	0,28	4,19	0,05	5,31	29,67	41,44	2,40	2,12	0,37	0,62
L7	7,27	2,50	0,16	1,96	38,92	39,06	0,47	0,57	0,07	0,34
L8	0,49	1,01	0,89	0,41	32,72	39,82	1,79	1,71	0,27	0,76
L9	0,31	0,80	0,71	0,62	29,09	37,45	3,02	3,45	0,58	0,78
L10	0,22	0,98	0,60	0,70	41,55	41,54	1,16	0,96	0,16	0,32
L11	1,69	3,40	0,72	2,86	37,11	35,97	0,78	1,55	0,17	1,23
L12	0,37	0,54	0,81	0,40	33,06	41,71	1,42	0,81	0,15	0,77
L13	0,01	0,68	0,83	0,50	35,89	39,99	1,86	1,12	0,25	0,67
L14	0,27	0,67	1,36	0,37	34,52	41,92	1,39	1,50	0,26	0,47
L15	0,22	0,85	0,72	0,43	30,89	34,43	4,27	3,49	0,83	0,24
L16	0,24	0,29	0,81	0,40	36,40	39,02	1,72	1,81	0,30	0,56
L17	0,31	0,59	0,64	0,61	36,22	34,73	1,43	0,93	0,13	1,87
L18	2,70	11,18	0,10	5,81	26,95	28,86	4,21	n.n.	n.n.	5,43
L19	0,21	0,47	0,93	0,27	32,51	34,64	5,26	3,55	0,91	0,35
L20	0,85	5,45	0,20	1,23	41,73	14,93	6,90	1,01	0,60	0,90
L21	1,02	8,71	0,04	1,90	46,55	5,92	8,06	0,64	0,53	0,62
L22	0,80	6,26	n.n.	1,84	45,26	7,57	8,29	0,81	0,65	0,70
L23	0,60	1,41	0,14	0,82	35,96	36,93	1,94	1,68	0,54	3,11
L24	0,38	3,74	0,03	0,59	3,67	4,42	0,22	0,12	n.n.	2,06
L25	1,26	5,63	n.n.	2,31	13,66	11,47	0,08	n.n.	n.n.	7,87
MW	0,99	2,49	0,55	1,29	33,37	32,74	2,55	1,44	0,33	1,36

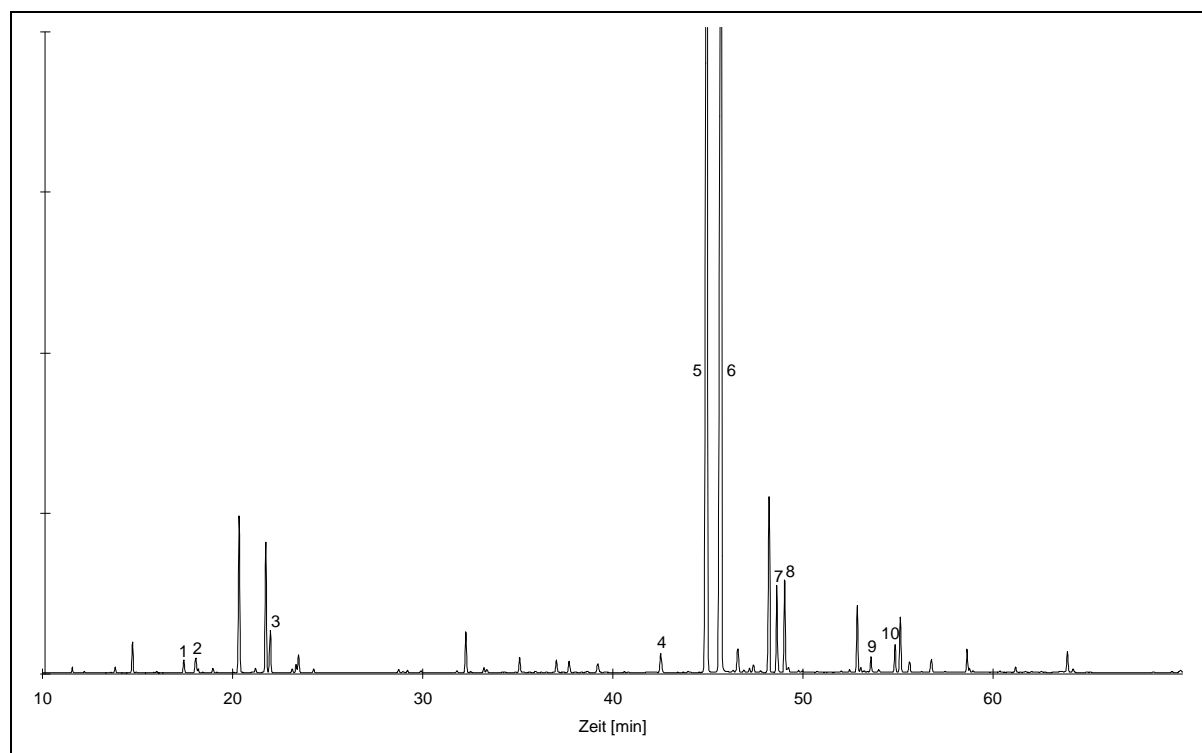
Peak Nr.: 1: Limonen, 2: Cineol, 3: 3-Octanon, 4: Campher, 5: Linalool, 6: Linalylacetat, 7: Terpinen-4-ol, 8: Lavandulylacetat, 9: Lavandulol, 10:  $\alpha$ -Terpineol; n.n nicht nachweisbar.

Die Bezeichnungen „Barreme“ bei den Proben **LH1** bis **LH4** und „Mont Blanc“ bei den Proben **L7**, **L8**, **L11**, **L13** und **L18** sind handelsüblich und stehen für die Qualität des jeweiligen Öls. „Barreme“ entspricht einem Estergehalt von 50/52 %, „Mont Blanc“ einem Estergehalt von 40/42 %.

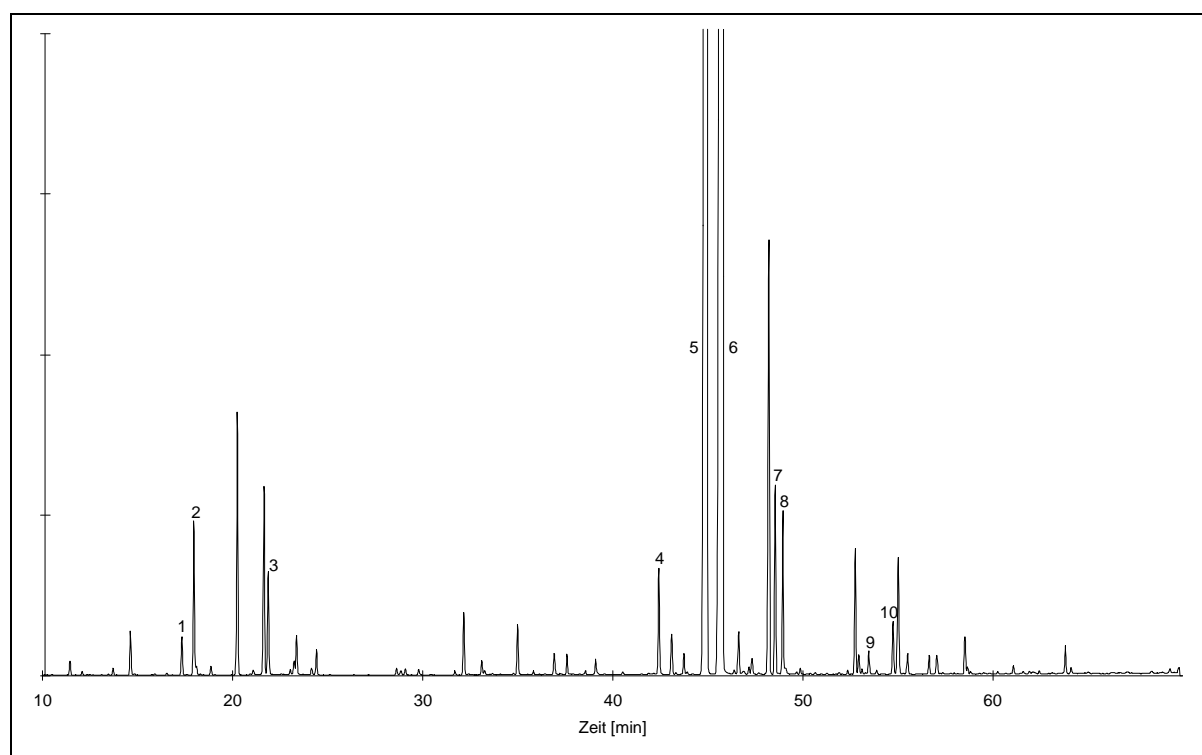
Ph. Eur. NT 2000 fordert für die ausgewählten Inhaltsstoffe folgende Grenzwerte: Limonen höchstens 1,0 %, Cineol und 3-Octanon höchstens 2,5 %, Campher höchstens 1,2 %, Linalool 20,0 bis 45,0 %, Linalylacetat 25,0 bis 46,0 %, Terpinen-4-ol 1,2 bis 6,0 %, Lavandulylacetat mindestens 1,0 %, Lavandulol mindestens 0,1 % und  $\alpha$ -Terpineol höchstens 2,0 %. Von den 25 untersuchten echten Lavendelölen des Handels entsprechen 13, d. h. 52 %, in mindestens einem Punkt nicht den Anforderungen der Ph. Eur. NT 2000 (**Tab. 26**). Die Probe **L23** chinesischer Provenienz liegt mit 3,1 % deutlich über dem erlaubten Wert für  $\alpha$ -Terpineol. Die Proben **L3** und **L12** liegen etwas unter dem Mindestwert für Lavandulylacetat. Die übrigen Inhaltsstoffe dieser drei Proben entsprechen den Anforderungen. Bei **L1**, **L6**, **L7**, **L11** und **L18** handelt es sich um minderwertige Lavendelöle, die in mehreren Punkten die Grenzwerte des Arzneibuchs nicht einhalten. **L1** enthält auffallend viel Linalylacetat, bei **L6**, **L7**, **L11** und **L18** wurde vermutlich Lavandinöl zugemischt, bzw. minderwertiges Pflanzenmaterial verwendet. **L20**, **L21** und **L22** heben sich v. a. durch die Abweichungen bei Cineol, Campher, Linalylacetat und  $\alpha$ -Terpineol von den übrigen Proben ab. Die angeblichen Lavendelöle aus dem Gebiet des ehemaligen Jugoslawien stammen vermutlich von einer abweichenden chemischen Rasse. Bei den synthetischen Ölen **L24** und **L25** erfüllen die meisten untersuchten Komponenten nicht die Vorgaben des Arzneibuchs. Besonders auffallend sind die sehr niedrigen Gehalte an Linalool und Linalylacetat. Die für Lavendelöl typischen Bestandteile 3-Octanon, Lavandulylacetat und Lavandulol sind nur in Spuren vorhanden oder fehlen vollständig. Die schlechte Qualität dieser Öle sollte allerdings schon im DC erkennbar sein.

Die nachfolgenden Beispielchromatogramme zeigen die Proben **L16** (**Abb. 18**) und **L10** (**Abb. 19**). Zwischen den beiden Chromatogrammen sind keine wesentlichen Unterschiede erkennbar. Nach Berechnung der relativen Flächenprozentage entsprechen beide Lavendelöle der aktuellen Ph.-Eur.-Monographie. Bei der nachfolgenden chiralen Untersuchung der Proben stellte sich jedoch heraus, dass es sich bei **L10** um ein verfälschtes Lavendelöl handelt.

**Abb. 18** Typisches Gaschromatogramm eines echten Lavendelöls (**L16**), aufgezeichnet nach der aktuellen Ph.-Eur.-Methode (Peak-Zuordnung siehe unten)



**Abb. 19** Gaschromatogramm eines verfälschten Lavendelöls (**L10**), aufgezeichnet nach der aktuellen Ph.-Eur.-Methode



Peak Nr.: 1: Limonen, 2: Cineol, 3: 3-Octanon, 4: Campher, 5: Linalool, 6: Linalylacetat, 7: Terpinen-4-ol, 8: Lavandulylacetat, 9: Lavandulol, 10:  $\alpha$ -Terpineol.

Die Grenzwerte der Ph. Eur. NT 2000 gelten nicht für Lavandinöl und Spiköl. Die Lavandinöle unterscheiden sich zum einen durch höhere Anteile von bis zu etwa 10 % an Cineol und Campher und zum anderen durch durchschnittlich geringere Mengen an Linalylacetat von echten Lavendelölen (**Tab. 27**). Die Probe **LH2** entspricht in ihrer Zusammensetzung eher einem echten Lavendelöl als einem Lavandinöl, allerdings ist der Linalylacetat-Anteil etwas zu gering. Die übrigen Proben stimmen in ihrer Zusammensetzung recht gut überein. Die Lavandinöle werden nach ihrem Estergehalt in verschiedene Gruppen eingeteilt und erhalten dementsprechende handelsübliche Namen. Bei der Probe **LH1** handelt es sich um ein Lavandinöl „sumian“, die Bezeichnung entspricht 20/22 % Estern. Die Proben **LH4** bis einschließlich **LH7** sind Lavandinöle „abrialis“, die 30/32 % Ester enthalten. Die Bezeichnung Lavandinöl „grosso“ der Proben **LH8** und **LH9** steht für 40/42 % Ester, während „super“ bei den Proben **LH10** und **LH11** 50/52 % an Estern entspricht.

**Tabelle 27:** Zusammensetzung verschiedener Lavandinöle des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozentage)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>LH1</b>	0,97	7,69	1,20	6,75	44,32	22,33	0,11	0,16	0,05	0,59
<b>LH2</b>	0,55	0,86	1,04	0,26	32,89	23,36	5,04	3,98	0,91	1,14
<b>LH3</b>	5,41	12,29	0,32	4,61	26,83	27,36	0,86	0,69	0,10	2,03
<b>LH4</b>	1,07	10,64	0,40	9,33	34,72	25,17	0,88	1,11	0,34	0,46
<b>LH5</b>	4,99	8,48	0,19	8,05	21,72	18,92	1,04	0,59	0,14	5,16
<b>LH6</b>	0,83	7,55	0,27	8,96	33,23	26,29	0,76	1,49	0,59	0,41
<b>LH7</b>	1,08	9,60	0,39	8,91	34,83	23,35	0,80	1,10	0,43	0,50
<b>LH8</b>	0,67	6,92	0,02	8,59	28,79	35,23	1,90	2,40	0,39	0,75
<b>LH9</b>	0,94	6,89	0,02	7,44	32,91	32,02	2,86	1,99	0,43	0,48
<b>LH10</b>	0,63	2,97	1,17	4,14	29,23	46,34	0,06	1,47	0,13	0,16
<b>LH11</b>	3,56	8,24	0,49	3,97	30,30	30,63	0,45	0,92	0,11	1,43
<b>MW</b>	1,88	7,47	0,50	6,46	31,80	28,27	1,34	1,45	0,33	1,19

Peak Nr.: 1: Limonen, 2: Cineol, 3: 3-Octanon, 4: Campher, 5: Linalool, 6: Linalylacetat, 7: Terpinen-4-ol, 8: Lavandulylacetat, 9: Lavandulol, 10:  $\alpha$ -Terpineol.

Die Spiköle enthalten viel Linalool, gefolgt von Cineol mit etwa 20-30 %, und Campher mit etwa 10-20 % (**Tab. 28**). Im Gegensatz zu Lavendelöl ist praktisch kein 3-Octanon,

Lavandulol und Lavandulylacetat enthalten. Der Linalylacetat-Gehalt liegt bei keiner der untersuchten Proben über 5 %. Das Öl **LL4** fällt durch nur 2,5 % Linalool auf. Für diese Abweichung konnte jedoch keine Erklärung gefunden werden.

**Tabelle 28:** Zusammensetzung verschiedener Spiköle des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>LL1</b>	4,16	29,74	0,04	11,62	32,28	3,88	0,33	0,11	0,05	2,00
<b>LL2</b>	1,91	25,22	0,01	15,87	48,68	0,30	0,31	n.n.	n.n.	0,21
<b>LL3</b>	4,13	29,55	0,04	11,76	32,23	4,38	0,26	0,09	0,05	2,13
<b>LL4</b>	1,73	20,49	n.n.	10,00	2,64	5,01	n.n.	n.n.	0,16	1,91
<b>LL5</b>	1,31	29,48	0,06	12,05	38,12	0,64	0,53	0,04	0,07	1,24
<b>LL6</b>	1,98	30,82	n.n.	12,39	39,77	0,45	0,07	n.n.	n.n.	1,11
<b>LL7</b>	1,03	16,99	0,10	15,43	51,17	0,19	0,24	0,02	0,13	0,50
<b>LL8</b>	2,71	21,40	0,04	11,93	48,53	3,21	0,35	0,03	n.n.	0,62
<b>MW</b>	2,37	25,46	0,04	12,63	36,68	2,26	0,26	0,04	0,06	1,22

Peak Nr.: 1: Limonen, 2: Cineol, 3: 3-Octanon, 4: Campher, 5: Linalool, 6: Linalylacetat, 7: Terpinen-4-ol, 8: Lavandulylacetat, 9: Lavandulol, 10:  $\alpha$ -Terpineol; n.n. nicht nachweisbar.

#### 1.4.1.3 Chirale GC-Untersuchung von Lavendelöl

Mit der Methode der Ph. Eur. NT 2000 können Zusätze von synthetischem oder semisynthetischem Linalool und/oder Linalylacetat nicht erkannt werden. Eine Methode, durch die die Enantiomerenverteilung von Linalool und Linalylacetat offengelegt wird, kann einen wesentlichen Beitrag zur Beurteilung der Authentizität von Lavendelölen leisten. Die gleichzeitige Trennung beider Enantiomerenpaare stellte ein Problem dar, da die verschiedenen Säulen, die getestet wurden, jeweils nur in der Lage waren ein Enantiomerenpaar zu trennen. Eine Trennung könnte durch eine Vortrennung auf einer achiralen Säule, d. h. multidimensionale GC, oder durch Verwendung von Wasserstoff als Trägergas erreicht werden [88,90]. Da ersteres aber eine für das AB zu aufwendige Methode ist und die Verwendung von Wasserstoff zusätzliche Sicherheitsvorkehrungen erfordert, wurde auf ein zweistufiges, länger dauerndes Temperaturprogramm zurückgegriffen.



Für die chirale GC-Untersuchung wurde eine Kapillarsäule belegt mit einem  $\beta$ -Cyclodextrinderivat gewählt, das an Position 2 und 3 Acetylreste trägt und an Position 6 mit einem tert-Butyldimethylsilyl-Rest verethert ist (*Säule E*). Die Länge der Säule beträgt 50 m mit einem ID von 0,25 mm. Als Trägergas dient Helium bei einer Durchflußrate von 1,5 ml/min und ein Splitverhältnis von etwa 1:100. Die Temperatur des Injektors und des Detektors wird jeweils bei 220 °C gehalten. Die Temperatur der Säule wird 40 min lang bei 70 °C gehalten, dann um 3 °C je Minute auf 100 °C erhöht, 100 °C werden 18 min lang gehalten, dann wird die Temperatur um 4 °C je Minute auf 180 °C erhöht und 180 °C 12 min lang gehalten.

**Tabelle 29:** Enantiomerenverteilung von Linalool und Linalylacetat in Lavendelölen des Handels GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (*Säule E*)

Handelsöl Int. Ch.	R(-)-Linalool : S(+)-Linalool	R(-)-Linalylacetat : S(+)-Linalylacetat
L1	83,6 : 16,4	64,2 : 35,8
L2	92,7 : 7,3	>99,0 : <1,0
L3	93,7 : 6,3	>99,0 : <1,0
L4	96,1 : 3,9	89,4 : 10,6
L5	96,0 : 4,0	>99,0 : <1,0
L6	95,1 : 4,9	>99,0 : <1,0
L7	60,9 : 39,1	64,6 : 35,4
L8	95,2 : 4,8	>99,0 : <1,0
L9	91,2 : 8,8	>99,0 : <1,0
L10	74,4 : 25,6	78,7 : 21,3
L11	92,6 : 7,4	94,2 : 5,8
L12	94,4 : 5,6	>99,0 : <1,0
L13	94,7 : 5,3	>99,0 : <1,0
L14	95,6 : 4,4	>99,0 : <1,0
L15	94,6 : 5,4	>99,0 : <1,0
L16	94,9 : 5,1	>99,0 : <1,0
L17	96,1 : 3,9	89,2 : 10,8
L18	73,9 : 26,1	71,3 : 28,7
L19	94,5 : 5,5	>99,0 : <1,0
L20	95,4 : 4,6	>99,0 : <1,0
L21	97,1 : 2,9	>99,0 : <1,0
L22	96,8 : 3,2	>99,0 : <1,0
L23	91,7 : 8,3	>99,0 : <1,0
L24	84,8 : 15,2	83,3 : 16,7
L25	65,0 : 35,0	50,7 : 49,3

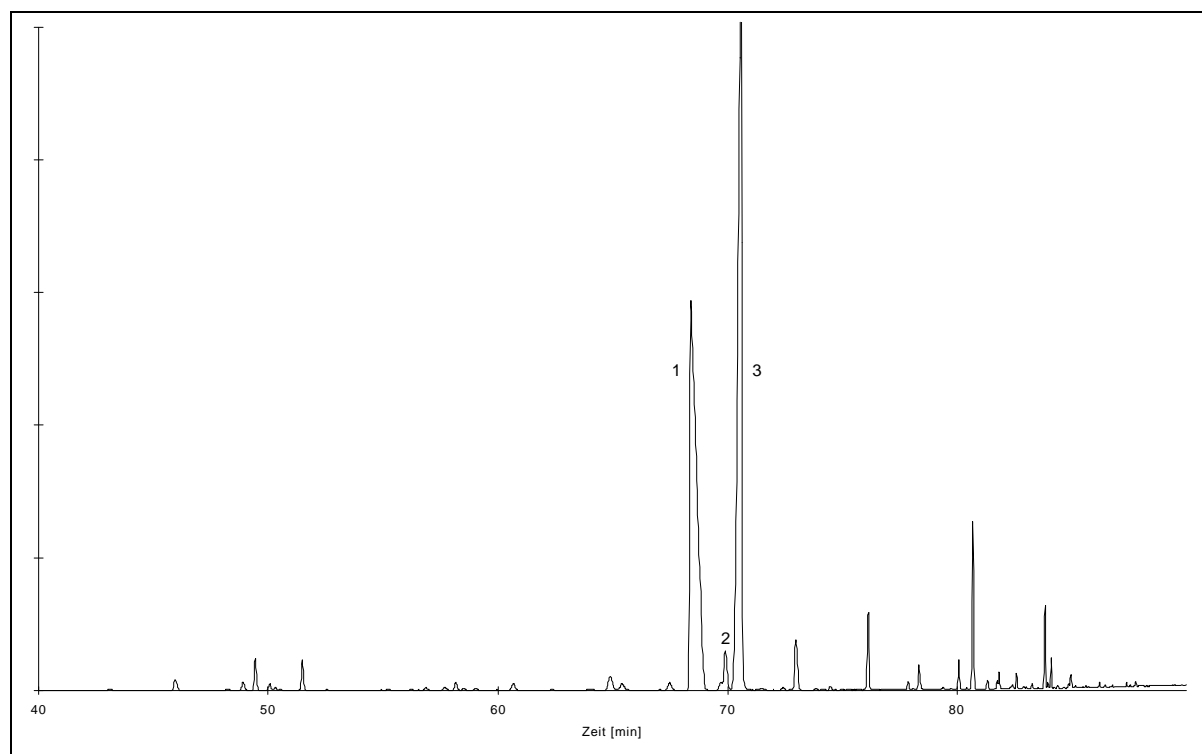
Mit dieser Methode können die Enantiomerenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat gleichzeitig bestimmt werden. Als Nachteil dieser Methode muß angeführt werden, daß der Lavandulol-Peak gleichzeitig mit (S)(+)-Linalool eluiert wird. So wird einerseits das Ergebnis für Linalool geringfügig verfälscht, da der Lavandulol-Anteil in der Regel zwischen 0,2 und 0,8

% liegt, andererseits kann die charakteristische Lavendelöl-Komponente nicht erfaßt werden. Als weiterer Nachteil ist die lange Laufzeit von 100 min zu nennen.

Das Verhältnis von R:S-Linalool ist bei **L1, L7, L10, L18, L24** und **L25** deutlich zugunsten des (S)(+)-Enantiomers verschoben (**Tab. 29**). Im Falle des Linalylacetats weisen die Proben **L1, L4, L7, L10, L11, L17, L18, L24** und **L25** erhöhte Werte für die S-Form auf. Wie oben bereits beschrieben, kommt ein Anteil von über 10 % S-Linalool, bezogen auf Gesamt-Linalool, bzw. 4 % S-Linalylacetat, bezogen auf Gesamt-Linalylacetat, nicht bei authentischem Lavendelöl vor, sondern wird durch den Zusatz von *rac.* Linalool und/oder Linalylacetat verursacht. Die Ölproben **L1, L4, L7, L10, L11, L17, L18, L24** und **L25** sind somit als verfälscht einzustufen. Die Proben **L4, L10** und **L17** entsprachen in allen Punkten den Anforderungen der Ph. Eur. Mit der chiralen Untersuchung kann festgestellt werden, daß es sich bei diesen ätherischen Ölen nicht um arzneibuchkonforme Ware handelt, da fremde Substanzen zugesetzt worden waren, die lt. Definition nicht erlaubt sind. Damit wird der Anteil der als verfälscht nachgewiesenen Handelsöle auf 16, d. h. 64 %, erhöht. Die Notwendigkeit einer chiralen GC-Methode für eindeutige Qualitätsbestimmungen im Rahmen der Arzneibuchuntersuchungen ist hiermit eindeutig belegt.

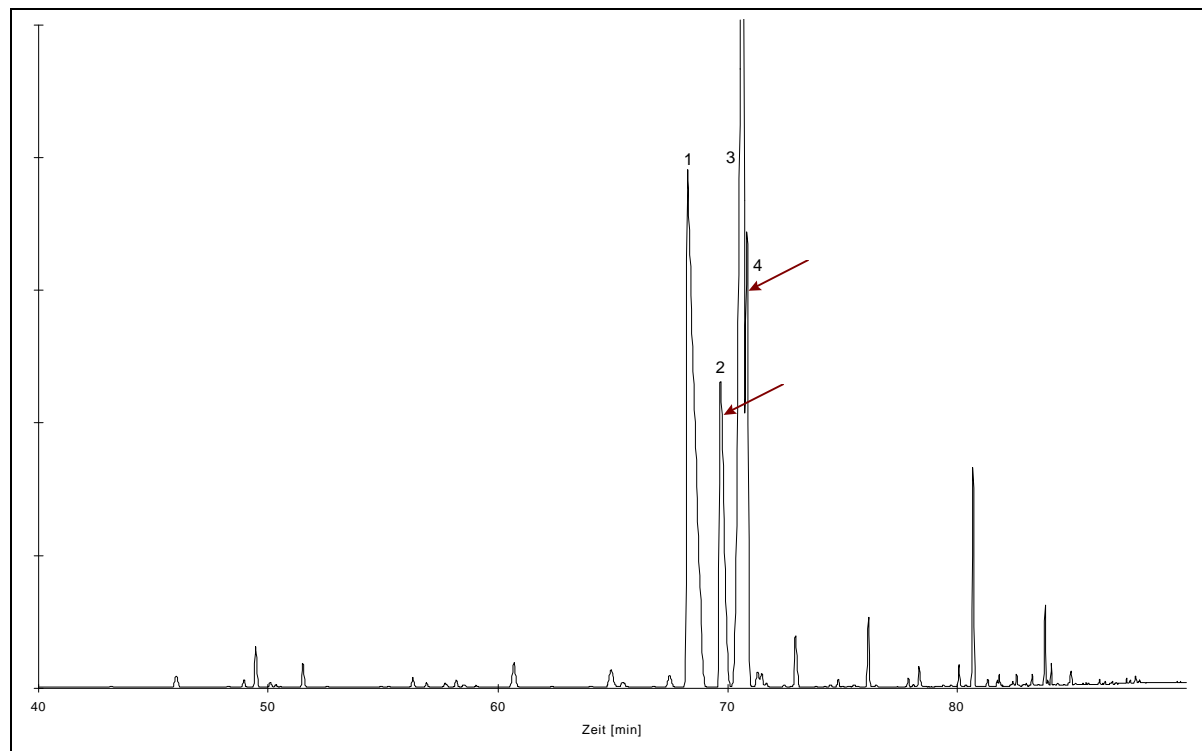
Die achiralen Chromatogramme (**Abb. 18, 19**) der beiden Lavendelöle lassen keine wesentlichen Unterschiede in der Qualität erkennen. Vergleicht man jedoch die chiralen Chromatogramme (**Abb. 20, 21**), fällt eine Verfälschung in der zweiten Probe auf. Die Berechnung der relativen Peakflächen bestätigt diese Vermutung.

**Abb. 20** Typisches Gaschromatogramm eines echten Lavendelöls (**L16**), aufgezeichnet auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule E).



Peak Nr.: 1: R(-)-Linalool, 2: S(+)-Linalool, 3: R(-)-Linalylacetat.

**Abb. 21** Gaschromatogramm eines verfälschten Lavendelöls (**L10**), aufgezeichnet auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule E).



Peak Nr.: 1: R(-)-Linalool, 2: S(+)-Linalool, 3: R(-)-Linalylacetat, 4: S(+)-Linalylacetat.

#### **1.4.1.4 Diskussion der Monographie-Änderung**

Die DC-Methode wurde in der aktuellen Form belassen, Maßnahmen zur Verbesserung der Identitäts- und Reinheitsbeurteilung waren nicht möglich.

Die neue chirale GC-Methode wurde als Monographie-Entwurf für das BfArM entwickelt. Die bisherigen Grenzwerte der Ph. Eur. NT 2001 wurden größtenteils beibehalten. Für Linalool wurde ein Höchstwert von 10 % S-Linalool, bezogen auf Gesamt-Linalool, vorgeschlagen. Für Linalylacetat wurde ein Höchstwert von 4 % S-Linalylacetat, bezogen auf Gesamt-Linalylacetat vorgeschlagen, sowie eine Erhöhung der Grenzwerte auf 30,0 bis 50,0 % von derzeit 25,0 bis 46,0 %. Da nur das Racemat von Linalylacetat im Handel erhältlich ist, wurde die Elutionsfolge der Enantiomere durch Definition festgelegt. Für Lavandulylacetat wurde eine Senkung der Mindestgrenze auf 0,7 % vorgeschlagen, da einige Handelsöle, die ansonsten gute Ergebnisse lieferten, Werte unter den zur Zeit geforderten 1,0 % aufwiesen. Da 3-Octanon ein typischer Bestandteil von Lavendelöl ist, ist vorgesehen, eine Mindestgrenze von 0,5 % einzuführen. Die Höchstgrenze sollte bei 2,5 % belassen werden.

Diese Rahmenrichtlinien sollten in Zukunft die Detektion von Verfälschungen mit *rac.* Linalool und/oder Linalylacetat ermöglichen. Gleichzeitig können aber auch alle anderen relevanten Komponenten von Lavendelöl, ausgenommen Lavandulol, quantifiziert werden und in die Gesamtbeurteilung des Öls mit einbezogen werden. Die GC-Methode erlaubt somit den Ausschluß von minderwertigen und verfälschten Lavendelölen.

### 1.4.2 Salbeiöl

Salbeiöl ist das durch Wasserdampfdestillation aus den oberirdischen Teilen von *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) gewonnene ätherische Öl. Es handelt sich um eine klare, schwach gelbe bis grünlichgelbe Flüssigkeit. Sein Geruch wird vor allem durch die beiden Hauptbestandteile Thujon und Campher geprägt.

Aufgrund seiner ausgeprägten antibakteriellen Wirkung, besonders gegenüber oralen Krankheitserregern [91], wird Salbeiöl vornehmlich zur Behandlung von Entzündungen im Mund- und Rachenraum eingesetzt. Im Tierversuch zeigt das ätherische Öl eine spasmolytische Wirkung im gastroenteralen Bereich, die auf eine Antagonisierung von Acetylcholin zurückzuführen ist [92,93]. Zudem ist Salbeiöl in Kombinationspräparaten gegen Hämatome, Verstauchungen und Venenbeschwerden zu finden [15]. Es ist nicht geklärt, ob die seit vielen Jahren bekannte antihydrotische Wirkung durch das ätherische Öl oder weitere Inhaltsstoffe des Salbeis, wie die Lamiaceengerbstoffe, verursacht wird [94]. Entsprechende Fertigpräparate enthalten nicht das reine ätherische Öl, sondern stets Trocken- oder Fluidextrakt aus Salbeiblättern. Die Hauptsymptome einer Überdosierung (ca. 0,3 g/kg) von Salbeiöl sind tonisch-klonische Krämpfe, die durch die Hauptinhaltsstoffe Thujon und Campher bedingt sind [95]. In großen Mengen aufgenommen, wirkt Thujon abortiv [96].

Unter der allgemeinen Bezeichnung „Salbei“ wird der dalmatinische Salbei, *Salvia officinalis* L. verstanden. Das dalmatinische Salbeiöl zeichnet sich durch seinen hohen Thujongehalt, bestehend aus einem Isomerengemisch aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon, im Bereich von etwa 30 bis 55 % aus. Daneben sind als weitere Hauptinhaltsstoffe Campher mit etwa 8 bis 25 % und in etwas geringeren Anteilen von etwa 7 bis 17 % Cineol zu finden. Diese drei Komponenten machen etwa 60 % des ätherischen Öls aus. Des weiteren sind bis zu etwa 7 %  $\alpha$ -Pinen und Camphen sowie jeweils nicht mehr als 4% weiterer Terpenkohlenwasserstoffe, wie  $\beta$ -Pinen, Limonen und Myrcen, enthalten. An sauerstoffhaltigen Terpenen sind bis zu 5 % Borneol und Bornylacetat zu finden. Der Linalool-Gehalt liegt bei maximal 3 %, während Linalylacetat nur vereinzelt in Spuren auftritt. Darüber hinaus weist dalmatinisches Salbeiöl einen bemerkenswert hohen Gehalt an Sesquiterpenen auf, darunter v. a.  $\beta$ -Caryophyllen,  $\alpha$ -Humulen und Viridiflorol [97-101]. Als charakteristische Inhaltsstoffe werden Salven und Tricyclen beschrieben [102,103].

Die Ph. Eur. NT 2000 beschreibt die Eigenschaften des Öls: „Das ätherische Salbeiblätteröl ist reich an Thujon“. Diese Forderung nach einem hohen Thujongehalt ist vermutlich historisch bedingt [104]. Eine rationale Begründung ist schwierig, da das fast thujonfreie Lavendelsalbeiöl ein sehr ähnliches Wirkspektrum aufweist. Die Zusammensetzung von Salbeiöl wird durch die Gewinnungsmethode praktisch nicht beeinflusst. Durch Lösungsmittlextraktion gewonnene Salbeiöle weisen die gleichen Inhaltsstoffe in sehr ähnlichen Anteilen auf wie durch Wasserdampfdestillation gewonnene Öle [102]. Die bei anderen Ölen, wie Lavendelöl und Bitterorangenblütenöl, häufig beobachtete Artefaktbildung tritt erst bei sehr niedrigen pH-Werten der Destillationsflüssigkeit ( $< 4$ ) auf, die jedoch in der Praxis nicht relevant sind. Der Erntezeitpunkt besitzt einen starken Einfluß auf die quantitative Zusammensetzung [105]. Die höchsten Ölausbeuten werden im Juli gefunden. Am meisten Cineol kann im Juni nachgewiesen werden, während Campher seinen Höchststand im August erreicht. Der beste Erntezeitpunkt ist jedoch im Oktober, wenn der Gehalt an Thujon am höchsten ist.

Salbei ist mit etwa 500 Arten weltweit die größte Gattung der Lamiaceae [106]. Das dalmatinische Salbeiöl von *Salvia officinalis* wird hauptsächlich im Gebiet des ehemaligen Jugoslawien produziert. Albanisches Salbeiöl weicht, obwohl es ebenfalls von der Stammpflanze *S. officinalis* gewonnen wird, in der Zusammensetzung von dalmatinischer Ware ab [107]. Als Verfälschungen von Salbeiöl kommen spanisches und griechisches Salbeiöl oder ätherische Öle ähnlicher Zusammensetzung in Frage [102,103]. Das ätherische Öl von *Salvia lavandulifolia* VAHL, das sog. spanische Salbeiöl, weist eine dem dalmatinischen Salbeiöl ähnliche Zusammensetzung auf, ist jedoch praktisch thujonfrei [100,108]. Der Hauptbestandteil des spanischen Salbeiöls ist Campher, gefolgt von Cineol. Das griechische Salbeiöl des dreilappigen Salbeis *Salvia fruticosa* MILLER (= *Salvia triloba* L. FIL.) besteht zu etwa 50 bis 60% aus Cineol. Thujon ist in Anteilen von etwa 2 bis 10 %, Campher in einem Bereich bis zu 15 % zu finden [109,110]. Griechisches Salbeiöl ist nicht im Handel erhältlich, dagegen findet man getrockneten dreilappigen Salbei als Droge im Handel. Diese Blätter werden als Verfälschung der *Salvia-officinalis*-Blätter beschrieben [104]. Somit kommen Verfälschungen von Salbeiöl mit *Salvia fruticosa* durch Verschnitt der Ausgangsmaterialien und nicht durch Verschnitt der ätherischen Öle zustande. Das ätherische Öl von *Salvia sclarea* L., das sog. Muskateller-Salbeiöl, weicht in seiner Zusammensetzung völlig von den drei bisher beschriebenen Salbeiölen ab. Der Hauptinhaltsstoff ist mit 50 bis 75 % Linalylacetat, gefolgt

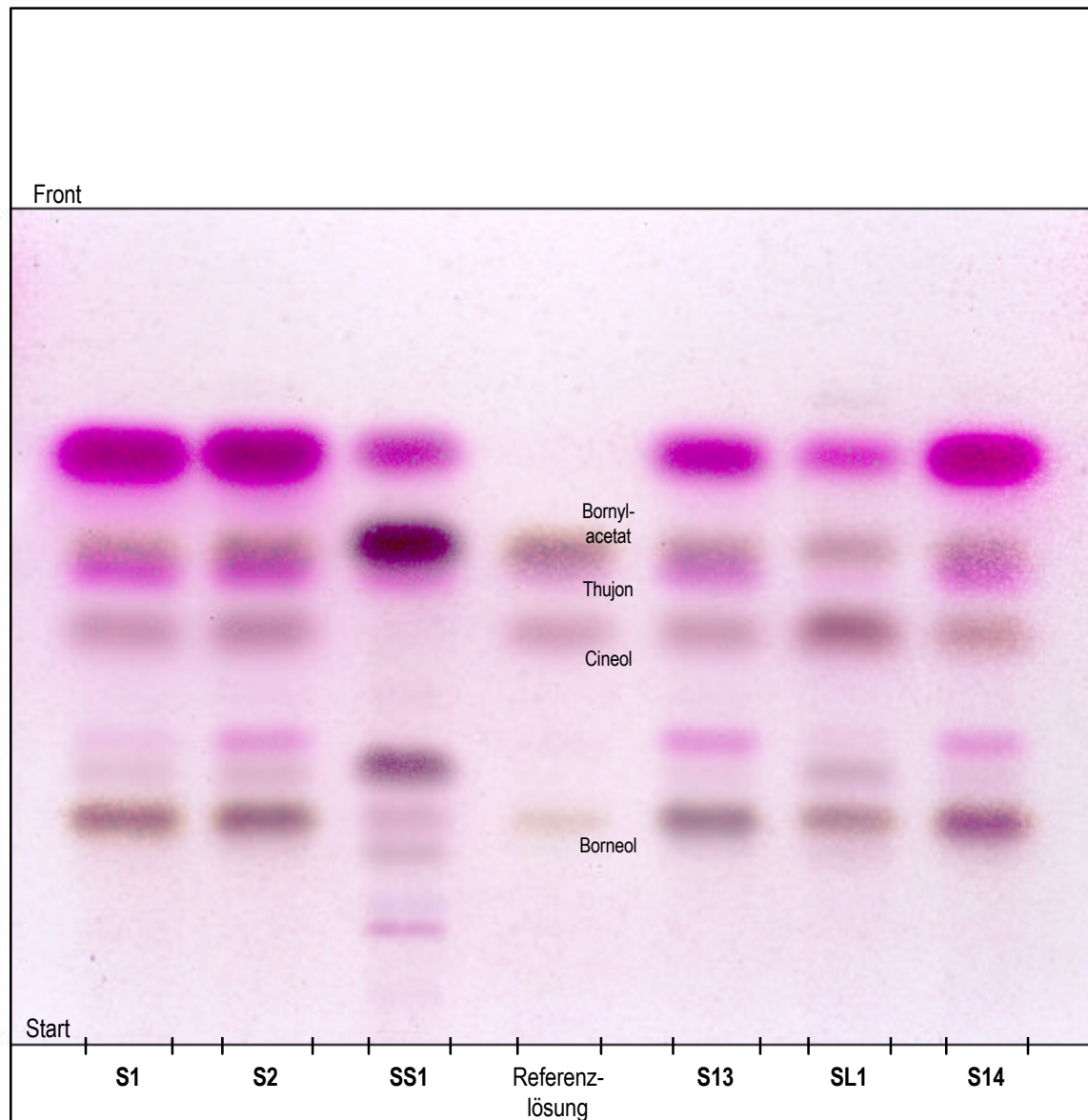
von bis zu 20 % Linalool. Cineol und Campher findet man in Spuren, während Thujon fehlt [100]. Muskateller-Salbeiöl zählt zwar neben dalmatinischem und spanischem zu den wichtigsten handelsüblichen Salbeiölen, scheidet aber aufgrund seiner Zusammensetzung als Verschnitt von Salbeiöl aus. Eine weitere Verfälschungsmöglichkeit ist durch den Zusatz von reinem Thujon zur „Aufwertung“ des ätherischen Öls gegeben.

#### ***1.4.2.1 DC-Untersuchung von Salbeiöl***

Für die Entwicklung einer DC-Methode für Salbeiöl wurde sowohl die DC-Bestimmung des Öls in der Ph.-Eur.-Monographie „Salbeiblätter“ als auch die DC-Identitätsprüfung der DAC-Monographie „Dalmatinisches Salbeiöl“ herangezogen.

In der Monographie des DAC für dalmatinisches Salbeiöl wird die DC-Identitätsprüfung auf einer Kieselgel-Platte durchgeführt [6]. Als Fließmittel wird eine Mischung von 95 VT Toluol *R* und 5 VT Methanol *R* über eine Laufstrecke von 15 cm verwendet. Die Referenzlösung besteht aus einer Mischung von 60 µl Thujon *RN*, 15 µl Cineol *R*, 5 mg Borneol *R* und 5 µl Bornylacetat *R* in 10 ml Toluol *R*. Zur Herstellung der Untersuchungslösung werden 0,1 ml Salbeiöl in 10 ml Toluol *R* gelöst. Die Detektion erfolgt mit Anisaldehyd-Reagenz *R*. Mit dieser Methode erhält man insgesamt recht hohe Laufstrecken, jedoch überschneiden sich die Banden von Thujon und Bornylacetat. Dadurch wird die Detektion dieser beiden Substanzen erschwert (**Abb. 22**).

**Abb. 22** Salbeiöl-DC nach Vorschrift des DAC 1999 (*Untersuchungslösung*: 10 µl Salbeiöl in 1ml Toluol gelöst, *Referenzlösung*: 60 µl Thujon, 15 µl Cineol, 5 mg Borneol und 5 µl Bornylacetat gelöst in 10 ml Toluol, Auftragungsmenge 10 µl, Sprühreagenz: Anisaldehyd-Reagenz)



**S1, S2, S13, S14:** Handelsöl von *Salvia officinalis*; interne Chargen-Bezeichnung.

**SL1:** Handelsöl von *Salvia lavandulifolia*; interne Chargen-Bezeichnung.

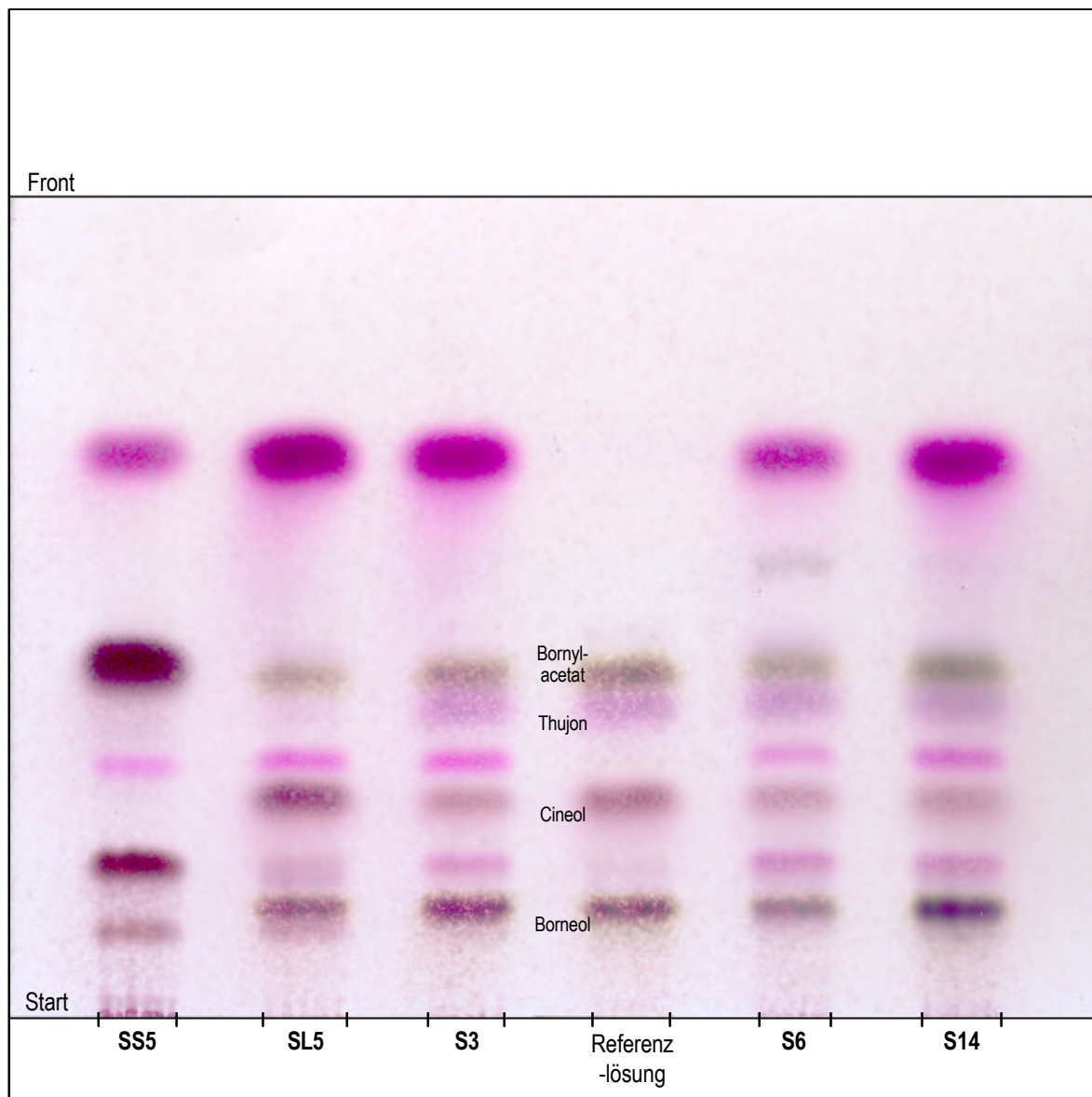
**SS1:** Handelsöl von *Salvia sclarea*; interne Chargen-Bezeichnung.

Als Alternative wird für die DC-Untersuchung von Salbeiöl auf Kieselgel als Fließmittel eine Mischung aus Toluol und Ethylacetat im Verhältnis 95:5 verwendet. Nach dem Entwickeln über eine Laufstrecke von 15 cm wird mit Anisaldehyd-Reagenz *R* besprüht. Die Auswertung des Chromatogramms erfolgt im Tageslicht. Wie bereits früher erwähnt (3.2.3.1), läßt sich Campher dünn-schichtchromatographisch erst ab einer Konzentration von etwa 10 mg/ml nachweisen. In einer Untersuchungslösung der Konzentration 20 mg/ml sind nur etwa 2,8 bis 5,6 mg Campher enthalten. Deshalb wurde für die Referenzlösung eine Mischung von 80 µl



Thujon *R*, 25 µl Cineol *R*, 10 mg Borneol *R* und 10 µl Bornylacetat *R* in 10 ml Toluol *R* hergestellt. Die Konzentrationen der Referenzsubstanzen wurden einem „durchschnittlichen“ Salbeiöl entsprechend gewählt.

**Abb. 23** DC verschiedener Salbeiöle des Handels (*Untersuchungslösung*: 20 µl Salbeiöl in 1ml Toluol gelöst, *Referenzlösung*: 80 µl Thujon, 25 µl Cineol, 10 mg Borneol und 10 µl Bornylacetat gelöst in 10 ml Toluol; Auftragungsmenge 10 µl; Sprühreagenz: Anisaldehyd-Reagenz)



**S3, S6, S14:** Handelsöl von *Salvia officinalis*; interne Chargen-Bezeichnung.

**SL5:** Handelsöl von *Salvia lavandulifolia*; interne Chargen-Bezeichnung.

**SS5:** Handelsöl von *Salvia sclarea*; interne Chargen-Bezeichnung.

Die Identitätsprüfung von Salbeiöl ist mittels DC einwandfrei möglich (**Abb. 23**). Borneol ergibt eine braungraue Zone im unteren Bereich, darüber erscheint die rotgraue Zone des Cineols. Knapp unterhalb der Hälfte ist die intensive rotviolette Zone des Thujons zu erkennen,

unmittelbar darüber die braungraue Zone des Bornylacetats. Im oberen Drittel erscheint die rotviolette Zone der Terpenkohlenwasserstoffe. Weitere rotviolette und blauviolette Zonen können in der Nähe von Borneol und Bornylacetat sowie zwischen Cineol und Thujon vorhanden sein (**Abb. 24**).

**Abb. 24** Schematische Darstellung eines typischen Salbeiöl-DCs auf Kieselgel.

Oberer Plattenrand	
	Eine violettrote Zone (Terpenkohlenwasserstoffe)
Bornylacetat: eine braungraue Zone	Eine braungraue Zone (Bornylacetat)
Thujon: eine rotviolette Zone	Eine intensive rotviolette Zone (Thujon)
Cineol: eine rotgraue Zone	eine rotgraue Zone (Cineol)
Borneol: eine violette Zone	Eine violette Zone (Borneol)
Referenzlösung	Untersuchungslösung

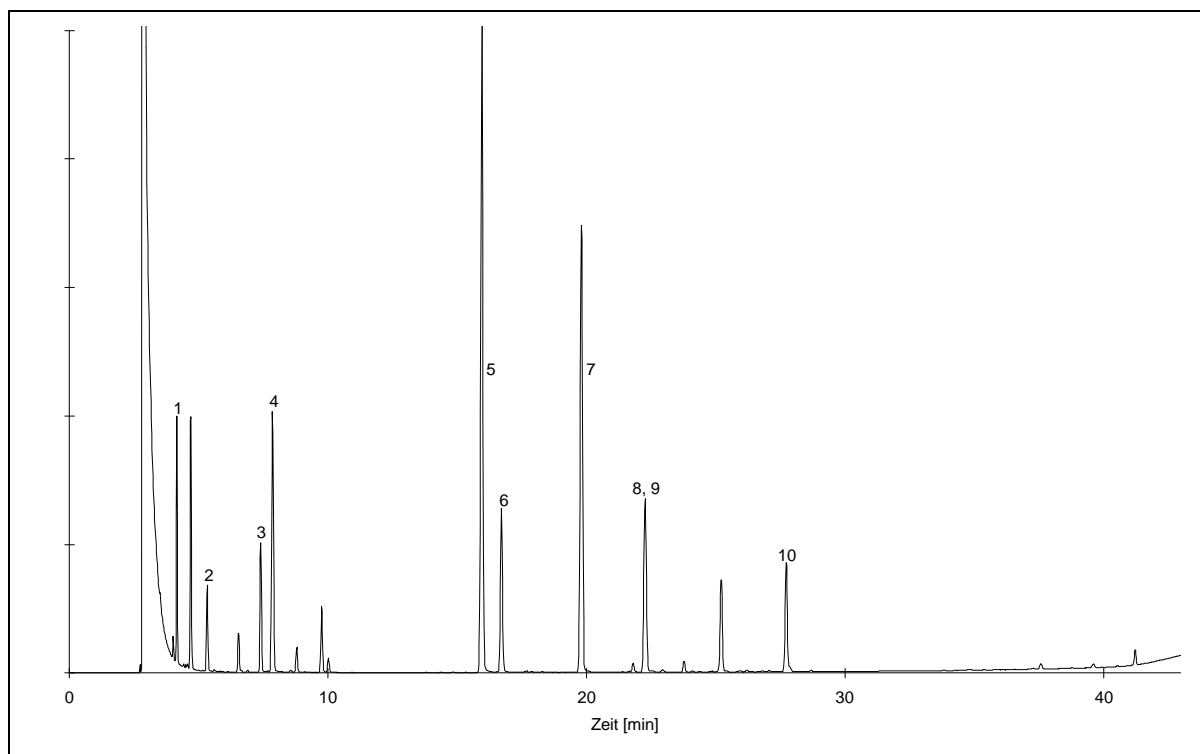
#### 1.4.2.2 Achirale GC-Untersuchung von Salbeiöl

Zusätzlich zu den Monographien „Salbeiblätter“ und „Dreilappiger Salbei“ der Ph. Eur. NT 2001 gibt es derzeit eine Monographie „Dalmatinisches Salbeiöl“ im DAC 1999 und eine Monographie „Salviae aetheroleum“ der Ph. Helv.

Die DAC-Monographie enthält als einzige ein chromatographisches Profil als Beleg über die Inhaltsstoffe des ätherischen Öls. Dazu wird eine Fused-Silica-Kapillarsäule von 30 m Länge, 0,32 mm ID und 0,25 µm df von chem. gebundenem Macrogol vorgeschrieben, als Trägergas gereinigter Stickstoff mit einer Durchflußrate von 1 ml/min und ein Splitverhältnis von etwa 1:50. Die Temperatur des Injektors wird bei 210 °C, die des Detektors bei 220 °C gehalten. Die Temperatur der Säule wird 5 min lang bei 60 °C gehalten, dann um 3 °C je Minute auf 165 °C erhöht, danach um 10 °C je Minute auf 200 °C erhöht. Mittels Normalisierung wird der Gehalt an Cineol,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon, Campher, Bornylacetat und Borneol berechnet. Es muß gewährleistet sein, daß die Auflösung der Peaks des  $\alpha$ -Terpineols und des Borneols größer als

1,0 ist. Unter diesen Bedingungen wird  $\beta$ -Caryophyllen gleichzeitig mit Bornylacetat eluiert (**Abb. 25**). Da der Anteil an  $\beta$ -Caryophyllen bis zu 10 % betragen kann, führt dies zu einer erheblichen Verfälschung des Ergebnisses für Bornylacetat. Die vorliegende Methode ist jedoch unzureichend für das vorliegende Trennproblem und wurde daher überarbeitet.

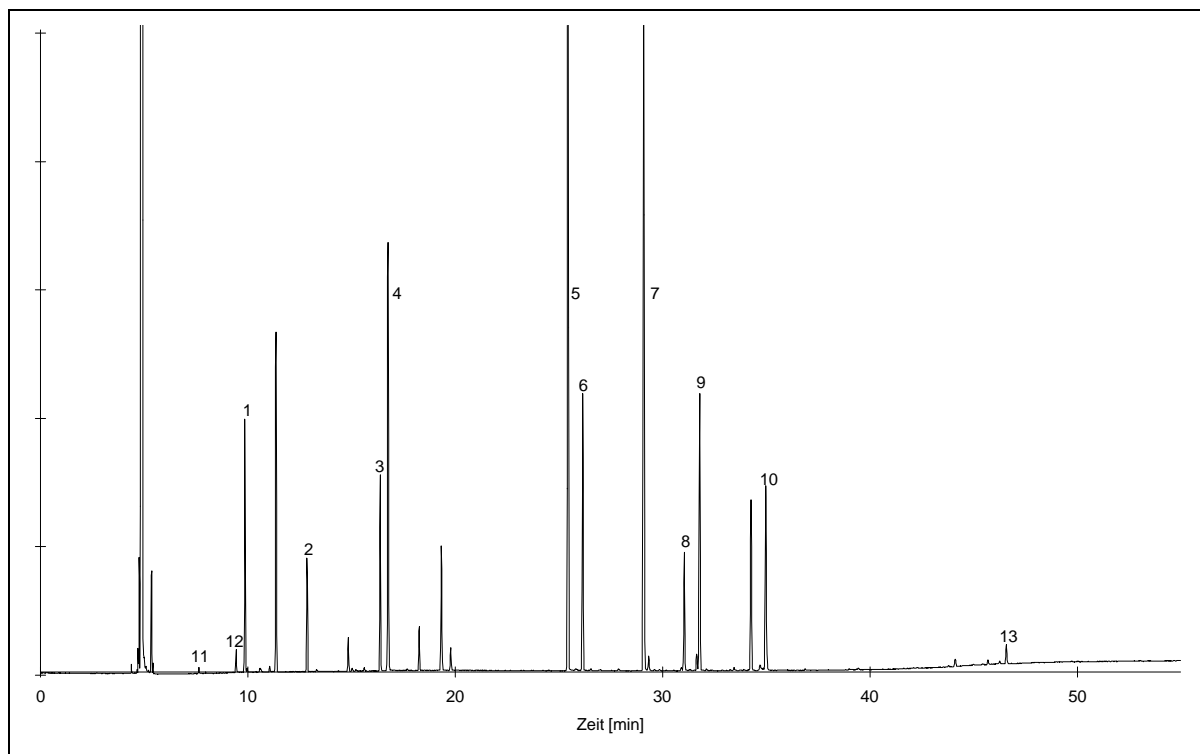
**Abb. 25** Typisches Gaschromatogramm eines *Salvia-officinalis*-Öls (**S3**), aufgezeichnet nach der DAC Methode



Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2:  $\beta$ -Pinen, 3: Limonen, 4: Cineol, 5:  $\alpha$ -Thujon, 6:  $\beta$ -Thujon, 7: Campher, 8: Bornylacetat, 9:  $\beta$ -Caryophyllen, 10: Borneol.

Um die Trennung zu verbessern, wurde für den neu zu erstellenden Salbeiöl-Monographievorschlag eine Fused-Silica-Kapillarsäule von 60 m Länge, 0,25 mm ID und 0,25  $\mu$ m df von chem. gebundenem Macrogol verwendet. Durch die längere Säule mit geringerem Innendurchmesser erhält man eine sehr gute Auflösung von Bornylacetat und  $\beta$ -Caryophyllen (**Abb. 26**) und die Bestandteile können somit einzeln quantifiziert werden. Als Trägergas dient Helium mit einer Durchflußrate von 1,5 ml/min bei einem Splitverhältnis von 1:100. Die Temperatur des Injektors und des Detektors liegt jeweils bei 220 °C. Die Temperatur der Säule wird 5 min lang bei 60 °C gehalten, dann um 4 °C je Minute auf 220 °C erhöht, 220 °C werden 10 min lang gehalten.

**Abb. 26** Typisches Gaschromatogramm eines *Salvia-officinalis*-Öls (**S3**), aufgezeichnet auf einer Macrogol-Säule 60 m (Säule B)



Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2:  $\beta$ -Pinen, 3: Limonen, 4: Cineol, 5:  $\alpha$ -Thujon, 6:  $\beta$ -Thujon, 7: Campher, 8: Bornylacetat, 9:  $\beta$ -Caryophyllen, 10: Borneol, 11: Salven, 12: Tricyclen, 13: Viridiflorol.

**Tabelle 30** zeigt die Ergebnisse der Untersuchung von Salbeiölen des Handels an 14 ausgewählten Inhaltsstoffen. Bei den Proben **S1** bis **S8** handelt es sich um dalmatinische Salbeiöle aus dem Gebiet des ehemaligen Jugoslawien. Das Herkunftsland von **S9** ist Albanien, **S10** und **S11** stammen aus Frankreich, **S12** aus Italien. Zur geographischen Herkunft der Proben **S13** und **S14** wurden keine Angaben gemacht. Auffällig sind die hohen Werte für  $\beta$ -Pinen bei den Proben **S11** und **S12**. **S11** weist zudem einen hohen Gehalt an Cineol und in Korrelation dazu einen niedrigen Anteil an  $\alpha$ -Thujon auf, während der Campher-Gehalt der Probe **S12** mit 10,75 % sehr niedrig ist. Die Zusammensetzung des albanischen Salbeiöls **S9** grenzt sich durch seinen außergewöhnlich hohen Limonen-Anteil von den übrigen Salbeiölen ab. Zusätzlich fällt es durch die niedrigen Werte für Campher sowie  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon und den hohen Cineol-Gehalt auf. Ein weiteres Indiz für die Andersartigkeit dieser Probe ist der Linalylacetat-Anteil von 1,6 %, während die übrigen Salbeiöle praktisch kein Linalylacetat enthalten.

**Tabelle 30:** Zusammensetzung von *Salvia-officinalis*-Ölen des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<b>S1</b>	4,72	4,74	1,39	4,51	10,61	20,34	3,83	26,96	0,67	n.n.	1,87	11,55	1,97	2,98
<b>S2</b>	6,43	5,75	0,99	4,12	11,42	20,21	4,91	23,05	0,65	n.n.	2,05	9,28	3,46	2,51
<b>S3</b>	4,62	6,61	2,23	3,86	9,31	22,88	5,77	21,30	0,25	n.n.	2,51	6,25	3,74	4,45
<b>S4</b>	4,45	4,65	1,42	3,07	8,51	33,94	6,17	23,70	0,36	n.n.	1,59	3,05	1,91	3,27
<b>S5</b>	2,99	5,75	1,73	1,94	10,41	33,49	5,04	20,65	0,26	n.n.	1,45	2,08	3,53	1,44
<b>S6</b>	2,87	7,46	1,59	6,98	9,98	24,23	3,53	26,31	0,26	n.n.	1,44	1,93	3,24	1,38
<b>S7</b>	4,50	6,85	2,26	3,45	9,15	22,53	5,98	21,55	0,32	n.n.	2,44	5,65	4,31	4,39
<b>S8</b>	5,40	7,09	2,29	4,29	9,89	21,82	5,66	19,84	0,09	n.n.	2,65	5,60	4,00	4,39
<b>S9</b>	2,56	0,90	0,38	18,46	25,84	4,78	0,93	23,01	1,04	1,59	4,09	2,76	0,58	6,37
<b>S10</b>	3,18	3,68	1,81	1,26	8,57	34,38	5,79	15,99	0,55	0,04	0,95	4,83	7,39	3,28
<b>S11</b>	3,66	4,96	6,18	3,97	19,90	12,08	5,87	14,92	0,52	n.n.	2,22	4,57	5,53	3,15
<b>S12</b>	5,00	5,10	6,30	1,64	11,32	27,67	5,33	10,75	0,34	n.n.	1,54	7,10	6,57	3,39
<b>S13</b>	6,36	8,72	1,87	3,41	10,79	25,48	4,04	22,61	0,45	n.n.	1,72	3,01	2,70	2,30
<b>S14</b>	4,36	5,85	1,65	2,84	12,24	23,00	6,61	21,49	0,42	n.n.	2,16	6,90	3,66	3,56
<b>MW</b>	4,20	5,30	2,38	4,80	12,08	23,20	4,90	20,67	0,44	0,14	2,07	5,39	3,85	3,42

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Camphen, 3:  $\beta$ -Pinen, 4: Limonen, 5: Cineol, 6:  $\alpha$ -Thujon, 7:  $\beta$ -Thujon, 8: Campher, 9: Linalool, 10: Linalylacetat, 11: Bornylacetat, 12:  $\beta$ -Caryophyllen, 13:  $\alpha$ -Humulen, 14: Borneol; n.n. nicht nachweisbar.

Die selbst destillierten Öle **S15** und **S16** weisen trotz der albanischen Herkunft des Drogenmaterials eine für dalmatinische Ware typische Zusammensetzung auf (**Tab. 31**). Hingegen enthält das Öl der Probe **S17** mit unbekannter Herkunft der Blätter sehr wenig  $\alpha$ -Thujon, jedoch sehr viel Campher. Vermutlich handelt es sich hierbei um einen Verschnitt von *S. officinalis* mit anderen Arten wie z. B. *S. lavandulifolia*.

**Tabelle 31:** Zusammensetzung von selbst destillierten Salbeiölen

GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Dest. Öl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<b>S15</b>	3,73	6,15	0,47	2,22	10,74	24,39	5,83	24,98	0,46	n.n.	2,01	1,13	1,26	2,59
<b>S16</b>	3,53	5,32	0,54	2,08	10,74	24,20	5,56	23,26	0,46	n.n.	1,93	1,56	1,78	2,39
<b>S17</b>	2,43	6,39	0,14	1,63	7,24	11,09	3,54	42,30	0,44	n.n.	1,56	0,45	0,87	5,52
<b>MW</b>	3,23	5,95	0,38	1,98	9,57	19,89	4,98	30,18	0,45	n.n.	1,83	1,05	1,30	3,50

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Camphen, 3:  $\beta$ -Pinen, 4: Limonen, 5: Cineol, 6:  $\alpha$ -Thujon, 7:  $\beta$ -Thujon, 8: Campher, 9: Linalool, 10: Linalylacetat, 11: Bornylacetat, 12:  $\beta$ -Caryophyllen, 13:  $\alpha$ -Humulen, 14: Borneol; n.n. nicht nachweisbar.

Die Zusammensetzung der Lavendelsalbeiöle unterscheidet sich vor allem durch das fast vollständige Fehlen von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon von *Salvia-officinalis*-Ölen, dagegen sind die Anteile an Cineol und Campher erhöht (**Tab. 32**). Zusätzlich sind höhere Gehalte an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen, Linalool und Linalylacetat, gleichzeitig weniger Bornylacetat,  $\beta$ -Caryophyllen und  $\alpha$ -Humulen zu beobachten. Die Probe **SL5** weicht in ihrer Zusammensetzung von den übrigen Proben ab. Das Öl enthält 2 % Thujon, der DAC 1999 läßt in seiner Monographie für Spanisches Salbeiöl nur 0,5 % zu. Weiter sind der niedrige Campher-Anteil und die ungewöhnlich hohen Anteile an Sesquiterpenen anzuführen.

**Tabelle 32:** Zusammensetzung von Lavendelsalbeiölen des Handels

GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<b>SL1</b>	8,23	5,07	5,08	6,56	26,37	n.n.	n.n.	27,23	1,88	1,63	0,87	1,24	0,07	1,60
<b>SL2</b>	9,35	1,57	6,35	3,94	29,29	n.n.	n.n.	31,89	4,21	0,67	0,26	1,98	0,16	0,82
<b>SL3</b>	10,25	1,60	6,29	4,43	29,80	n.n.	n.n.	31,90	4,21	0,68	0,24	1,92	0,16	0,83
<b>SL4</b>	6,96	7,17	5,33	4,56	22,79	n.n.	n.n.	24,12	2,42	3,97	1,26	0,92	0,21	2,29
<b>SL5</b>	4,88	6,78	6,30	6,96	27,86	1,68	0,31	13,00	1,01	0,35	1,77	3,94	5,28	3,77
<b>MW</b>	7,93	4,44	5,87	5,29	27,22	0,34	0,06	25,63	2,75	1,46	0,88	2,00	1,18	1,86

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Camphen, 3:  $\beta$ -Pinen, 4: Limonen, 5: Cineol, 6:  $\alpha$ -Thujon, 7:  $\beta$ -Thujon, 8: Campher, 9: Linalool, 10: Linalylacetat, 11: Bornylacetat, 12:  $\beta$ -Caryophyllen, 13:  $\alpha$ -Humulen, 14: Borneol; n.n. nicht nachweisbar.

**Tabelle 33:** Zusammensetzung von Muskateller-Salbeiölen des Handels  
GC-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m (Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozentage)

Handelsöl Int. Ch.:	Peak Nr. (Zuordnung siehe unten)								
	1	3	4	8	9	10	11	12	14
<b>SS1</b>	n.n.	n.n.	0,38	n.n.	16,65	68,45	0,27	2,14	0,09
<b>SS2</b>	n.n.	n.n.	0,18	0,14	21,13	63,69	0,09	0,55	0,09
<b>SS3</b>	n.n.	n.n.	0,24	n.n.	18,62	71,73	0,07	0,83	n.n.
<b>SS4</b>	n.n.	n.n.	0,22	n.n.	16,27	73,15	0,33	1,73	0,08
<b>SS5</b>	0,21	0,15	0,39	n.n.	21,27	60,84	0,03	1,29	0,03
<b>SS6</b>	0,08	0,09	0,32	n.n.	16,38	73,05	0,20	1,44	n.n.
<b>MW</b>	0,05	0,04	0,29	0,02	18,39	68,49	0,17	1,33	0,05

Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2: Camphen, 3:  $\beta$ -Pinen, 4: Limonen, 5: Cineol, 6:  $\alpha$ -Thujon, 7:  $\beta$ -Thujon, 8: Campher, 9: Linalool, 10: Linalylacetat, 11: Bornylacetat, 12:  $\beta$ -Caryophyllen, 13:  $\alpha$ -Humulen, 14: Borneol; n.n. nicht nachweisbar.

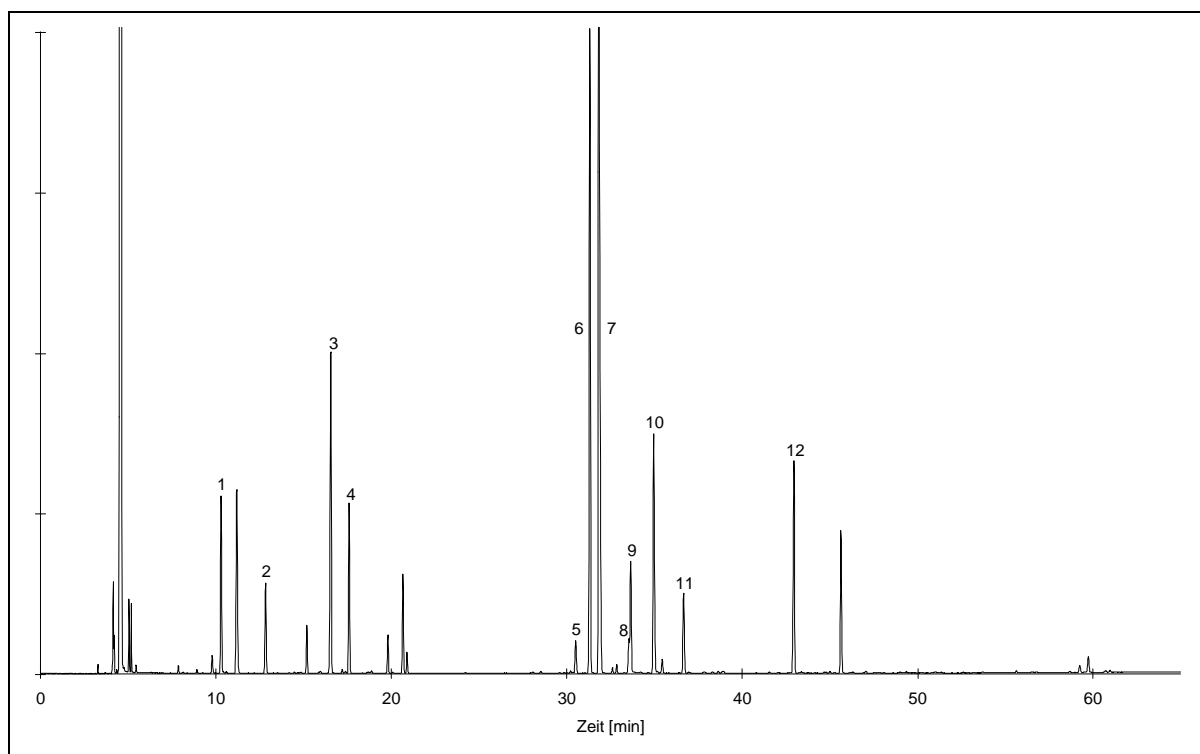
Muskateller-Salbeiöl (**Tab. 33**) ist völlig anders zusammengesetzt als dalmatinisches und spanisches Salbeiöl. Die Hauptbestandteile sind Linalylacetat und Linalool, die zusammen 80-90 % des gesamten ätherischen Öls ausmachen. Dies zeigt, daß eine Verfälschung oder Verwechslung von offizinellem Salbeiöl durch Muskateller-Salbeiöl praktisch nicht in Frage kommen kann.

#### 1.4.2.3 Chirale GC-Untersuchung von *Salvia-officinalis*-Öl

In der Folge wurde die Enantiomerenverteilung der Inhaltsstoffe Campher und Borneol in Salbeiöl untersucht. Dazu wurde eine  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (*Säule G*) von 50 m Länge und 0,25 mm ID verwendet. Als Trägergas dient Helium mit einer Durchflußrate von 1,5 ml/min bei einem Splitverhältnis von 1:100. Die Temperatur des Injektors und des Detektors liegt jeweils bei 220 °C. Die Temperatur der Säule wird um 2 °C je Minute von anfangs 60 °C auf 180 °C erhöht und 10 min lang bei 180 °C gehalten.

Die Campher-Enantiomere werden sehr gut getrennt (**Abb. 27**), für Borneol wird keine optimale Auflösung der Enantiomere erreicht, die Quantifizierung ist dennoch möglich.

**Abb. 27** Typisches Gaschromatogramm eines *Salvia-officinalis*-Öls (**S3**), aufgezeichnet auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule 50 m (Säule G).



Peak Nr.: 1:  $\alpha$ -Pinen, 2:  $\beta$ -Pinen, 3: Cineol, 4: Limonen, 5: (-)-Campher, 6: (+)-Campher, 7:  $\alpha$ -Thujon, 8: (+)-Borneol, 9: (-)-Borneol, 10:  $\beta$ -Thujon, 11: Bornylacetat, 12:  $\beta$ -Caryophyllen.

In **Tabelle 34** sind die Ergebnisse der chiralen Untersuchung von *Salvia-officinalis*-Ölen für Campher und Borneol dargestellt. Für beide Inhaltsstoffe ist kein Schema bei der Enantiomerenverteilung erkennbar. Die Proben weisen jeweils das Racemat mit wechselndem Überschuß auf. Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen aus der Literatur, die jeweils das Vorkommen der beiden Stereoisomeren von Campher und Borneol beschreiben [63,111,112]. Bisher fehlt eine Erklärung für diese Tatsache, da der biosynthetische Oxidationsweg für die beiden Bestandteile des Salbeis noch nicht geklärt ist.



**Tabelle 34:** Enantiomerenverteilung von Campher und Borneol in Salbeiölen des Handels, GC-Untersuchung auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule (Säule E)

Handelsöl Int. Ch.	(-)-Campher : (+)-Campher	(+)-Borneol : (-)-Borneol
<b>S1</b>	23,6 : 76,4	12,1 : 87,9
<b>S2</b>	33,5 : 66,5	31,4 : 68,6
<b>S3</b>	4,6 : 95,4	19,7 : 80,3
<b>S5</b>	34,2 : 65,8	65,7 : 34,3
<b>S6</b>	17,8 : 82,2	72,0 : 28,0
<b>S7</b>	7,2 : 92,8	17,7 : 82,3
<b>S8</b>	6,5 : 93,5	23,7 : 76,3
<b>S9</b>	41,2 : 58,8	0 : 100
<b>S11</b>	23,0 : 77,0	48,7 : 51,3
<b>S13</b>	20,7 : 79,3	56,7 : 43,3
<b>S14</b>	11,1 : 88,9	46,7 : 53,3

#### 1.4.2.4 GC-MS-Untersuchungen von Salbeiöl

Zur Aufklärung einiger unbekannter Peaks in Salbei-Handelsölen und im Thujon-Standard wurden GC-MS-Untersuchungen durchgeführt. Dabei lag das Hauptaugenmerk auf den in der Literatur beschriebenen Substanzen Salven, Tricyclen und Viridiflorol, die für *Salvia officinalis*-Öl charakteristisch sind. Daneben war eine unbekannte Substanz von Interesse, die mit 10-12 % in der Thujon-Standardsubstanz enthalten ist und die auch in zwei der Handelsöle detektiert werden konnte.

Für die Kohlenwasserstoffe Salven und Tricyclen ergaben sich erwartungsgemäß sehr kurze Retentionszeiten; das Sesquiterpen Viridiflorol wurde hingegen sehr spät eluiert. Die unbekannte Substanz erwies sich als Fenchon. Durch Bestimmung der Kovats-Indices auf zwei Säulen unterschiedlicher Polarität wurden die Ergebnisse der Massenspektren bestätigt.

Die C9-Verbindung Salven entsteht durch Decarbonylierung des Thujons und kommt somit nur im thujonreichen Öl von *Salvia officinalis* vor. Bei den Proben **S1**, **S4** und **S9** kann kein Salven nachgewiesen werden (**Tab. 35**). bei **S9** fehlen zusätzlich Tricyclen und Viridiflorol. Die Proben **S5** und **S6** enthalten Fenchon. Eventuell stammt dieses aus zugesetztem Thujon. In der Literatur konnten keinerlei Hinweise auf das Vorkommen von Fenchon in genuinem Salbei gefunden werden. Die selbst destillierten Salbeiöle enthalten Salven, Tricyclen und verhältnismäßig viel Viridiflorol. **S15** und **S16** weisen zudem Spuren von Fenchon auf. Die Salbeiöle aus *Salvia lavandulifolia* (**Tab. 36**) enthalten Tricyclen, aber kein Salven und

Viridiflorol. Eine Ausnahme bildet **SL5**, das neben den oben erwähnten 2 % Thujon auch Spuren von Salven aufweist. Fenchon kann nicht nachgewiesen werden.

**Tabelle 35:** Anteile charakteristischer Komponenten in *Salvia-officinalis*-Ölen  
GC/MS-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m und auf Methylsilicon Säule 50 m  
(Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.	Salven	Tricyclen	Viridiflorol	Fenchon
<b>S1</b>	n.n.	0,25	0,10	0
<b>S2</b>	0,34	0,28	0,60	0
<b>S3</b>	0,10	0,40	0,43	0
<b>S4</b>	n.n.	0,28	0,18	0
<b>S5</b>	0,39	0,16	0,76	0,45
<b>S6</b>	0,33	0,31	0,63	0,73
<b>S7</b>	0,09	0,41	0,29	0
<b>S8</b>	0,09	0,41	0,64	0
<b>S9</b>	n.n.	n.n.	n.n.	0
<b>S10</b>	0,63	0,07	2,59	0
<b>S11</b>	0,34	0,15	1,52	0
<b>S12</b>	0,92	0,13	2,20	0
<b>S13</b>	0,38	0,28	0,88	0
<b>S14</b>	0,15	0,24	0,56	0
<b>S15</b>	0,22	0,16	6,70	0,03
<b>S16</b>	0,25	0,14	7,28	0,02
<b>S17</b>	0,11	0,18	4,75	0

n.n. nicht nachweisbar

**Tabelle 36:** Anteile charakteristischer Salbeiöl-Komponenten in *Salvia-lavandulifolia*-Ölen  
GC/MS-Untersuchung auf Macrogol-Säule 60 m und auf Methylsilicon Säule 50 m  
(Gehalte der Komponenten als relative Flächenprozent)

Handelsöl Int. Ch.	Salven	Tricyclen	Viridiflorol	Fenchon
SL1	n.n.	0,31	n.n.	0
SL2	n.n.	n.n.	n.n.	0
SL3	n.n.	0,04	n.n.	0
SL4	n.n.	0,16	n.n.	0
SL5	0,05	0,27	n.n.	0

n.n. nicht nachweisbar

#### 1.4.2.5 Physikalische Reinheitsprüfungen nach Arzneibuch

Als physikalische Reinheitsprüfungen nach Arzneibuch wurde die relative Dichte sowie der Brechungsindex der Salbeiöle für eine Reihe von ätherisch-Öl-Mustern bestimmt.

Die Ergebnisse für Salbeiöl sind für beide Prüfungen homogen. Es ergaben sich für die relative Dichte Werte zwischen 0,910 und 0,920. Der DAC 1999 erlaubt Werte im Bereich von 0,905 bis 0,925. Die Bestimmung des Brechungsindex ergab Werte zwischen 1,462 und 1,468. Auch hier liegen die vom DAC 1999 vorgeschriebenen Werte im Bereich von 1,457 bis 1,473.

#### 1.4.2.6 Diskussion des neuen Monographie-Entwurfs

Für die DC-Prüfung wurde die Methode in den Monographie-Vorschlag übernommen, bei der mit einer Mischung von 95 VT Toluol und 5 VT Ethylacetat als Fließmittel gearbeitet wird. Es werden gut auswertbare DCs erhalten. Mit Hilfe der vier genannten Referenzsubstanzen ist die Identitätsbestimmung von Salbeiöl einfach und mit signifikanten Daten durchführbar.

Für das „Chromatographische Profil“ wurde eine 60 m lange achirale Macrogol-Säule mit einem inneren Durchmesser von 0,25 mm gewählt. Die oben genannte achirale Methode wurde in den Monographie-Entwurf aufgenommen. Die Konzentrationen der Referenzsubstanzen in der Referenzlösung wurden einem durchschnittlichen Salbeiöl nachempfunden. Für die Festlegung der Grenzwerte der Einzelsubstanzen wurden Literaturdaten berücksichtigt, da zum

einen nicht von der Authentizität der Handelsproben ausgegangen werden kann, zum anderen bei Salbeiöl größere natürliche Schwankungen möglich sind, die bei einer relativ geringen Probenzahl von 14 Handelsölen und 3 selbst destillierten Ölen nicht erfaßt werden können. Die Auflösung wird anhand der Peaks von Limonen und Cineol berechnet und soll mindestens 3,0 betragen. Für  $\alpha$ -Pinen wurde ein Grenzbereich von 2,0 bis 7,0 %, für  $\beta$ -Pinen höchstens 4 % vorgeschlagen. Die Öle von *S. lavandulifolia* und *S. fruticosa* enthalten durchschnittlich höhere Anteile an diesen beiden Komponenten. Der Anteil an Cineol sollte zwischen 6,0 und 18,0 % betragen. Höhere Werte können durch Verunreinigung des Ausgangs-Drogenmaterials mit *S. fruticosa* verursacht sein. Thujon bildet den Hauptbestandteil von Salbeiöl.  $\alpha$ -Thujon überwiegt mit 20,0 bis 42,0 % etwa um den Faktor vier bis acht im Vergleich zu  $\beta$ -Thujon, das mit 2,5 bis 10,0 % vertreten sein sollte. Der zweitwichtigste Inhaltsstoff von Salbeiöl ist Campher mit 14,0 bis 28,0 %. Für Bornylacetat und Borneol wurden die Grenzwerte des DAC 1999 von jeweils höchstens 5,0 % übernommen, da die Untersuchungen entsprechende Werte lieferten.  $\beta$ -Caryophyllen wird als charakteristisches Sesquiterpen beschrieben, das sich in höheren Anteilen qualitätsmindernd auswirkt. Sein Gehalt sollte den Wert von 10,0 % nicht überschreiten.

Die Bestimmung der Salbeiöl-Komponenten auf einer chiralen Säule bringt keine Vorteile mit sich. Da Campher und Borneol als Racemate mit wechselndem Überschuß auftreten, führt die Untersuchung der Enantiomerenverhältnisse zu keiner verbesserten Authentizitätskontrolle.

Die Probenzahl für die Prüfung der relativen Dichte und der Brechungsindices war zu gering, um verlässliche Aussagen zu Maximal- und Minimalwerten zu treffen. Daher wurden die Grenzwerte für die Reinheitsprüfungen sämtlich aus dem DAC übernommen. Für die relative Dichte ist dies ein Bereich von 0,905 bis 0,925. Der Wert des Brechungsindex darf im Bereich von 1,457 bis 1,473 liegen, die optische Drehung variiert von -3 bis +15°.

## **2. Diskussion**

Gaschromatographische Methoden im Rahmen von Arzneibuch-Untersuchungen ätherischer Öle sind zur Charakterisierung und Identifizierung dieser Vielstoffgemische unbedingt erforderlich. Ein gut dokumentierter GC-Fingerprint erlaubt die rasche Zuordnung und Qualitätsbeurteilung von ätherisch-Öl-Mustern und ist der DC an Genauigkeit überlegen.

Hohe Stereospezifität während der Biosynthese von Monoterpenen kann in der Regel die Qualitätsbeurteilung von ätherischen Ölen mittels chiraler GC-Analytik wesentlich verbessern. Voraussetzung für die Bestimmung der Enantiomerenverteilung ist, daß der zu analysierende Inhaltsstoff während der Gewinnung und Untersuchung des ätherischen Öls nicht racemisiert. Limitierende Faktoren sind zum einen der hohe Preis der chiralen Säulen sowie die enantiomerenreinen Referenzsubstanzen, die für die Zuordnung der Peaks notwendig sind, jedoch nicht immer im Handel erhältlich sind. Notfalls müssen in den Monographien der entsprechenden ätherischen Öle die Peak-Zuordnungen per definitionem vorgenommen werden.

Liegen die Hauptinhaltsstoffe eines ätherischen Öls als natürliche Racemate vor, da sie auf nichtenzymatischem Weg bzw. durch Autoxidation gebildet wurden oder während der Verarbeitung racemisierten, so versagt die enantioselektive GC-Analyse. Zudem kann die chirale GC-Untersuchung nicht eingesetzt werden, wenn die Hauptinhaltsstoffe des fraglichen ätherischen Öls optisch nicht aktive Verbindungen sind.

Der Einsatz der chiralen GC-Säulen ist bei sehr preisgünstigen ätherischen Ölen (weniger als ca. 10 €/kg) nicht erforderlich, da diese in aller Regel nicht verfälscht werden. Darüber hinaus versagt die enantioselektive Analyse, wenn reine Enantiomere zugesetzt werden, die entweder auf synthetischem Wege hergestellt oder durch Isolation aus billigeren ätherischen Ölen gewonnen wurden.

Nicht immer kann die stereoselektive GC-Untersuchung bei ätherischen Ölen eingesetzt werden, sie sollte jedoch das Mittel der Wahl sein, wenn über die Enantiomerenreinheit Aussagen zur Qualität der Probe möglich sind.

Der praktische Nutzen traditioneller physikalischer Reinheitsprüfungen hinsichtlich der relativen Dichte, des Brechungsindex und der optischen Drehung, ist nicht länger begründbar. Sie sind leicht manipulierbar und liegen für die meisten ätherischen Öle ohnehin in sehr ähnlichen Bereichen. Dies trifft besonders auf die optische Drehung, aber auch auf den Brechungsindex zu. Eine etwas höhere Aussagekraft besitzt die relative Dichte. Konsequenterweise sollte eine Streichung der optischen Drehung und des Brechungsindex aus den ätherisch-Öl-Monographien erfolgen. Nicht verzichtet werden kann auf die Bestimmung der Peroxidzahl. Auch die Prüfung auf Identität eines ätherischen Öls mittels DC besitzt durchaus ihre Berechtigung. Sie stellt vor allem für den Offizin-Apotheker eine schnelle, einfach durchzuführende und kostengünstige Methode dar.

### III. Zusammenfassung der Ergebnisse

Die DAB-Monographien „**Kiefernadelöl**“ und „**Fenchelöl**“ wurden um eine achirale GC-Methode erweitert. Zudem wurde die DC-Methode von Kiefernadelöl abgeändert und die „Prüfungen auf Reinheit“ durch die Bestimmung der Peroxidzahl ergänzt. Das bestehende „Chromatographische Profil“ der Ph.-Eur.-Monographien „**Lavendelöl**“ und „**Bitterorangenblütenöl**“ wurde durch eine chirale GC-Methode ersetzt. Völlig neue Monographien wurden für **süßes Fenchelöl**, **Korianderöl** und **Salbeiöl** erstellt.

Durch die Entwicklung eines *chiralen* chromatographischen Profils für **Lavendelöl**, **Bitterorangenblütenöl** und **Korianderöl** kann eine deutliche Verbesserung der Authentizitätsbeurteilung erreicht werden.

Zur Bestimmung der Enantiomerenverteilung von Linalool und/oder Linalylacetat in **Lavendelöl** und **Korianderöl** wird die gleiche Quarzkapillarsäule, belegt mit einem  $\beta$ -Cyclodextrinderivat, das an Position 2 und 3 einen Diacetylrest und an Position 6 einen tert-Butyldimethylsilylrest trägt, eingesetzt. Die Untersuchungen von **Korianderöl** konnten das charakteristische und konstante Verhältnis von R(-)-Linalool zu S(+)-Linalool von 13:87 bestätigen. Abweichungen davon können als Verfälschung gewertet werden. Im Gegensatz dazu liegt in genuinem **Lavendelöl** fast ausschließlich das R(-)-Enantiomer vor. Dieses neigt jedoch während der Wasserdampfdestillation zur Racemisierung, so daß nur mindestens 90 % an R-Linalool (bezogen auf Gesamt-Linalool) als Authentizitätskriterium gefordert werden können. Anders verhält es sich mit Linalylacetat, das ebenfalls fast ausschließlich in der R(-)-Form vorliegt, aber kaum zur Racemisierung neigt. Es bietet eine wesentlich genauere Beurteilungsgrundlage für echtes Lavendelöl, da nur bis zu 4 % des S(+)-Enantiomers vorhanden sein dürfen.

Um die relevanten optisch aktiven Bestandteile des **Bitterorangenblütenöls**, Linalool und *trans*-Nerolidol, zu untersuchen, wird eine mit einem  $\beta$ -Cyclodextrinderivat belegte Quarzkapillarsäule eingesetzt, bei dem die OH-Gruppen an Position 2 und 6 mit Methylresten und die OH-Gruppen an Position 3 mit einem Pentylrest verethert sind. Die Enantiomerenverteilung von Linalool ist im Falle des Neroliöls nur bedingt für eine Aussage zur Authentizität tauglich. Obwohl es in der Pflanze fast ausschließlich in der R(-)-Form vorliegt, werden bei der Destillation, begünstigt durch den sauren pH-Wert im Destillationssumpf, bis zu 30 % S(+)-Linalool gebildet. In hoher Enantiomerenreinheit und Stabilität tritt hingegen *trans*-Nerolidol auf. Bereits mehr als 2 % der R(-)-Form (bezogen auf Gesamt-*trans*-Nerolidol) können als Verfälschung des ätherischen Öls gewertet werden.

Im Falle von **Kiefernadelöl** und **Salbeiöl** wird zur GC-Prüfung auf Identität, Reinheit und Gehalt eine achirale Macrogol-Säule verwendet, da die relevanten chiralen Inhaltsstoffe dieser ätherischen Öle als Racemate bzw. in nicht definierbaren Enantiomerenverhältnissen vorliegen. Die Unterscheidung von Kiefernadel- und Latschenkiefernöl ist auf diese Weise nicht möglich, deshalb muß Latschenkiefernöl wie bisher in die Kiefernadelöl-Monographie implementiert bleiben. Auch die chirale GC-Untersuchung von Kiefernadelöl und Latschenkiefernöl auf einer modifizierten  $\beta$ -Cyclodextrin-Säule hat keine Unterscheidungsmöglichkeiten ergeben. Das ätherische Öl von *Salvia officinalis* kann dagegen mittels achiraler GC-Untersuchung gut von anderen ätherischen Ölen aus *Salvia*-Arten unterschieden werden.

Da die **Fenchelöl**-Komponenten Anethol und Estragol optisch nicht aktive Verbindungen sind, wird auch hier zur Erstellung des chromatographischen Profils eine achirale Macrogol-Säule verwendet. Dadurch wird die Charakterisierung und Unterscheidung der ätherischen Öle der beiden Varietäten *vulgare* und *dulce* ermöglicht.



Eine DC-Methode zur Prüfung auf Identität wurde für **süßes Fenchelöl**, **Korianderöl** und **Salbeiöl** entwickelt. Die Verwendung des hepatotoxischen Dichlormethans zur Herstellung des **Kiefernadelöl**-DC wurde durch das „Standard-Fließmittel“ für ätherische Öle, bestehend aus Toluol und Ethylacetat, ersetzt. Während die DC-Untersuchung von süßem Fenchelöl und Korianderöl relativ unspezifische Ergebnisse liefert, bietet sie eine gute Möglichkeit zur Identitätsprüfung von Salbeiöl und Kiefernadelöl.

Die physikalischen Reinheitsprüfungen auf relative Dichte, Brechungsindex und optische Drehung wurden bei **süßem Fenchelöl**, **Korianderöl** und **Salbeiöl** durchgeführt. Verfälschte Handelsöle können damit nur in den seltensten Fällen erkannt werden. Dagegen konnte gezeigt werden, daß die Bestimmung der Peroxidzahl wertvolle Hinweise auf überlagerte **Kiefernadelöle** liefert.

## IV. Experimenteller Teil

### 1. Materialien

#### 1.1 Handelsproben ätherischer Öle

Die Angaben beziehen sich auf die Deklaration der Hersteller bzw. Vertreiber der jeweiligen ätherischen Öle.

##### Kiefernadel-/Latschenkiefernöl:

Latschenkiefernöl Allgäu	LK10	Ch. B.: 119911	Allga Pharma
Latschenkiefernöl Allgäu, ohne Tocopherol	LK11	Ch. B.: 119911	Allga Pharma
Latschenkiefernöl Fa. Fuchter, Leinfelden	LK8		Allga Pharma
Latschenkiefernöl Ost, Fa. Düllberg Konzentra	LK19		Allga Pharma
Oleum pini sylvestris, DAB 10	K1	Ch.: 90141039	Caelo
Oleum pini pumilionis, Ph.Helv. 8	LK20	Ch.: 83859019	Caelo
Oleum pini pumilionis "Tirol. Spitzenqualität", Ph.Helv. 8	LK9	Ch.: 83334378	Caelo
Kiefernadelöl naturidentisch	K12	Ch.: 527738	Cosnaderm
Latschenkiefernöl naturidentisch	LK22	Ch.: 600559	Cosnaderm
Kiefernadelöl	K6	740-050	Düllb. Konz.
Latschenkiefernöl, Deutschland	LK15	740-520	Düllb. Konz.
Kiefernadelöl DAB 1998, GUS	K9	PO114730	Frey + Lau
Latschenkiefernöl, Ph.Helv. VII, Kanada	LK16	PO113675	Frey + Lau
Kiefernadelöl	K8	Ref.: 910575	P. Kaders
Latschenkiefernöl	LK6	Ref.: 910574	P. Kaders
Meereskiefernöl	K18	Art. Nr. 801248	K. Kitzing
Latschenkiefernöl, Tir. gar. echt	LK1	Art. Nr. 801509	K. Kitzing
Kiefernadelöl, <i>P. sylvestris</i> , Europa	K7		Morgentau
Meerkieferöl, rekt., <i>P. pinaster</i> , Portugal	K19		Morgentau
Zirbelkieferöl, <i>P. cembra</i> , Balkan	K15		Morgentau
Latschenkiefernöl, <i>P. mugo</i> , Frankreich	LK2		Morgentau

Kiefernadel, <i>P. silvestris</i> , kontr. biol. A., Frankr.	K3	Ch.: 07683-1	Primavera
Lariciokiefer, <i>P. laricio</i> , Wildsammlung, Frankr.	K17	Ch.:06860-2	Primavera
Zirbelkiefer, <i>P. cembra</i> , Wildsammlung, Österr.	K16	Ch.:07846-4	Primavera
Latschenkiefer, <i>P. mugo</i> , Zweig, Wildsammlung, Österr.	LK12	Ch.:07855-1	Primavera
Kiefernadelöl	K5		Roth
Latschenkiefernöl	LK14	Art. 6505.1	Roth
Kiefernadelöl natürlich und naturident, Fa. Lichtenheldt	K11		Sixtus
Oleum pini sylvestris, Russisch	K4		Sixtus
Kiefernadelöl naturrein, Fa. Schwarzkopf, Jugoslawien	K10		Sixtus
Tiroler Kiefernadelöl naturrein, Osttirol, Fa. Unterweger	K2		Sixtus
<i>Pinus mugo</i> naturrein, Eigendestillation, Brecherspitze	LK18		Sixtus
Allgäuer Latschenkiefernöl, Fa. Allga Pharma	LK5		Sixtus
Latschenkiefernöl DAB 10, Polen, Fa. Düllerg. Konzentra	LK7		Sixtus
Latschenkiefernöl naturrein, Fa. Eschgfeller	LK17		Sixtus
Latschenkiefernöl, Kanada, Fa. Frey + Lau	LK4		Sixtus
Latschenkiefernöl nat. u. naturid., Fa. Haarmann & Reimer	LK21		Sixtus
Latschenkiefernöl, <i>P. mugo</i> , Sibirien, Fa. Osswald	LK3		Sixtus
Latschenkiefernöl naturr., <i>P. mugo</i> , Osttirol, Fa. Unterweger	LK13		

### Fenchelöl

Oleum Foeniculi rectific. DAB 1997	F3	Ch.: 854342518	Caelo
Fenchelöl, süß	F1	738-000	Düllb. Konz.
Fenchelöl, DAB 1998, Spanien	F4	PO114381	Frey + Lau
Fenchelöl, bitter	F7	SO100040	Frey + Lau
Fenchelöl, bitter	F2	Ref.: 910563	P. Kaders
Fenchelöl, bitter	F8	Art. Nr. 802285	K. Kitzing
Fenchelöl, süß, <i>F. vulgare var. dulce</i> , Frankr.	F5		Morgentau
Fenchel, süß, <i>F. vulgare dulce</i> , biol. dyn. A., Italien	F9	Ch.: 07001-2	Primavera
Fenchelöl, natürlich	F6	Art. 5343.1	Roth

Korianderöl

Korianderöl	C3		Aldrich
Coriander, <i>Coriandrum sativum</i> , GUS	C9		Amyris
Koriander, <i>Coriandrum sativum</i>	C4	Ch.: Q904069	Bergland
Koriandersamenöl, Oleum Coriandri e Semine	C13	Ch.: 95301060	Caelo
Corianderöl	C1	736-235/5248	Düllb. Konz.
Corianderöl russisch	C2	SO100235	Frey + Lau
Corianderöl	C6	Ref.: 111266	P. Kaders
<i>Coriandrum sativum</i> , GUS	C8		K. Kitzing
Koriander, <i>Coriandrum sativum</i> , Rußland	C5	Ch.: 09140-1	Primavera
Koriander kbA, <i>Coriandrum sativum</i> , Frankr.	C14	Ch.: 09070-2	Primavera
Koriandersamen, <i>Coriandrum sativum</i> , Rußland	C10	Ch.: 09241-2	Primavera
Korianderblatt, <i>Coriandrum sativum</i> , Ägypten	CB1	Ch.: 08841-1	Primavera
Korianderöl natürlich	C11		Roth
Corianderöl russisch	C7		Schierholz
Corianderöl russisch	C12		Vögele

Bitterorangenblütenöl

Neroli extra, <i>Citrus bigaradia</i> , Marokko	N7		Amyris
Oleum Aurantii Floris	N3	Ch.: 91319020	Caelo
Oleum Aurantii Floris artific.	N12	Ch.: 95834020	Caelo
Neroliöl, <i>Citrus aurantium ssp. amara</i>	N1		K. Kitzing
Neroliöl, <i>Citrus bigaradia</i> , Tunesien	N9		Morgentau
Neroli ägypt. kbA, <i>Citrus aurantium ssp. aur.</i> , Ägypten	N5	Ch.: 08979-1	Primavera
Neroli marokk., <i>Citrus aurantium ssp. aur.</i> , Marokko	N2	Ch.: 09007-1	Primavera
Neroli sizil., <i>Citrus aurantium ssp. aur.</i> , Italien	N8	Ch.: 08481-2	Primavera
Orangenblüte Absolve Ägypten	N11	Ch.: 08194-1	Primavera
Neroliöl natürlich	N6		Roth
Neroliöl künstlich	N13		Roth
Neroli Bigarade Petales, 1995, Calabrian Citrus Center	N10		Sixtus
Neroliöl spanisch, Fa. Charabot, 1995	N4		Sixtus

Petitgrainöl

Petitgrain, <i>Citrus aurantium</i>	PG2	Ch.: Q904035	Bergland
Oleum Petitgrain, Paraguay	PG1	Ch.: 84126478	Caelo
Petitgrainöl, <i>Citrus bigaradia</i> , Paraguay	PG3		Morgentau
Petit Grain kbA, <i>Citrus aurantium ssp. aur.</i> , Ägypten	PG4	Ch.: 08840-2	Primavera

Lavendelöl

Oleum Lavandulae "Mont Blanc" 38-48%, DAB 1997	L7	Ch.: 85217019	Caelo
Oleum Lavandulae "Bareme" 50-58%, DAB 1997	L1	Ch.: 83548378	Caelo
Lavendelöl, künstlich	L24	Ch.: 616253	Cosnaderm
Lavendelöl	L8	740-590	Düllb. Konz.
Lavendelöl Frankr., <i>L. angustifolia</i>	L9	Lot Nr. 951221/2	Essencia
Lavendelöl Maillette, <i>L. angustifolia</i>	L10	Lot Nr. 951123/3	Essencia
Lavendelöl Slowenien, <i>L. angustifolia</i>	L20	Lot Nr. 960118	Essencia
Lavendel synthetisch	L25	Lot Nr. 951101	Essencia
Lavendelöl Mt. Bl. 38/40%, DAB 1998, Frankr.	L11	PO118922	Frey + Lau
Lavendelöl Mont Blanc, Haute Provence	L12	Ref.: 910553	P. Kaders
Lavendelöl 40/42%, Haute Provence	L13	Ref.:910554	P. Kaders
Lavendelöl commerciale, Haute Provence	L14	Ref.:910555	P. Kaders
Lavendelöl kroatisch	L21	Ref.:910556	P. Kaders
Lavendelöl chinesisches	L23	Ref.:910557	P. Kaders
Lavendelöl Barreme	L2	Art. Nr. 800484	K. Kitzing
Lavendelöl Barreme Clonale	L3	Art. Nr. 801845	K. Kitzing
Lavendelöl Barreme extra, <i>L. offic.</i> , Frankr.	L4		Morgentau
Lavendel fein, <i>L. offic.</i> , konv. A., Frankr.	L15	Ch.: 07762-1	Primavera
Lavendel fein, <i>L. offic.</i> , biol. dyn. A., Italien	L16	Ch.: 07529-3	Primavera
Lavendel extra, <i>L. offic.</i> Wildsammlung, Frankr.	L5	Ch.: 06548-5	Primavera
Lavendelöl natürlich	L17	Art. 5443.1	Roth
Berglavendel dalmatinisch, 6/97	L22		Sixtus
Lavendelöl Mont Blanc, 4/95	L18		Sixtus
Lavendelöl extrafein, Frankr., Fa. Schwarzkopf	L6		Sixtus
Lavendelöl, Population aus Stecklingen, Fa. Adrian	L19		Sixtus

### Lavandinöl

Lavandinöl abrialis	LH4	740-560	Düllb. Konz.
Lavandinöl abrialis, Frankr.	LH5	PO104415	Frey + Lau
Lavandinöl grosso, Haute Provence	LH8	Ref.: 910558	P. Kaders
Lavandinöl sumian, Haute Provence	LH1	Ref.: 910559	P. Kaders
Lavandinöl super, Haute Provence	LH10	Ref.: 910560	P. Kaders
Lavandinöl abrialis, Haute Provence	LH6	Ref.: 910561	P. Kaders
Lavandinöl grosso	LH9	Art. Nr. 800483	K. Kitzing
Lavandinöl 30/32 abrialis	LH7	Art. Nr. 800481	K. Kitzing
Lavandinöl super, <i>L. hybrida</i> , Frankr.	LH11		Morgentau
Lavandin, <i>L. hybrida</i> , biol. dyn. A., Italien	LH2	Ch.: 07492-2	Primavera
Lavandinöl, französisch, 22/24%	LH3	Art. 6603.1	Roth

### Spiköl

Oleum Spicae, EB6	LL1	Ch.: 90905099	Caelo
Spiköl	LL2	743-595	Düllb. Konz.
Spikeöl, EB6, Spanien	LL3	PO104944	Frey + Lau
Spiköl	LL4	Ref.: 910562	P. Kaders
Spiköl, span. naturrein	LL5	Art. Nr. 357250	K. Kitzing
Spiköl, <i>L. latifolia</i> , Spanien	LL6		Morgentau
Speiklavendel, <i>L. latifolia</i> , kontr. biol. A., Frankr.	LL7	Ch.: 07537-1	Primavera
Spiköl purum	LL8	Art. 7079.1	Roth

### Salbeiöl

Salbei kbA, <i>Salvia officinalis latif.</i> , Frankr.	S10		Amyris
Salbei, <i>Salvia officinalis</i>	S14	Ch.: Q000491	Bergland
Dalmatin. Salbeiöl, Oleum Salviae DAC 1986 3. Erg. 1991	S1	Ch.: 92030020	Caelo
Salbeiöl, <i>Salvia officinalis</i>	S13	743-515/91375	Düllb. Konz.
Salbeiöl dalmatinisch, ca. 40%	S2	SO402241	Frey + Lau
<i>Salvia officinalis</i> , ca. 30% Thujon, Croatien	S3		K. Kitzing
Salbei, <i>Salvia officinalis</i> , Kroatien	S4	89117991022	Medicon
Salbeiöl -extra- 45/50%, <i>Salvia officinale</i> , Dalmatien	S5		Morgentau

Salbei, kbA, <i>Salvia officinalis</i> , Frankr.	S11	Ch.: 09320-1	Primavera
Salbei, biol. dyn. Anbau, <i>Salvia officinalis</i> , Italien	S12	Ch.: 10305-2	Primavera
Salbeiöl, natürlich, dalmatinisch	S6		Roth
Salbeiöl, dalmat. 25/30%	S7		Schierholz
Salbeiöl, <i>Salvia officinalis</i> , 30%, Dalmatien	S8		Sixtus
Etherisches Öl Salbei, <i>Salvia officinalis</i> , Albanien	S9	Ch.: 381759	Spinnrad

### Lavendelsalbeiöl

Salbei, <i>Salvia officinalis</i> ssp. <i>lavandulifolia</i> , Spanien	SL1		Amyris
Salbeiöl, <i>Salvia hispanica</i>	SL2	743-510/5721	Düllb. Konz.
Salbeiöl, spanisch	SL3	SO100128	Frey + Lau
<i>Salvia lavandulifolia</i> , Spanien	SL4		K. Kitzing
Lavendelsalbei kbA, <i>Salvia lavandulifolia</i> , Frankr.	SL5	Ch.: 08887-1	Primavera

### Muskatellersalbeiöl

Muskateller-Salbei, <i>Salvia sclarea</i>	SS1	Ch.: Q904161	Bergland
Muskateller-Salbeiöl	SS2	Ch.: 94024110	Caelo
<i>Salvia sclarea</i> , Frankr.	SS3		K. Kitzing
Muskateller-Salbeiöl, <i>Salvia sclarea</i> , Frankr.	SS4		Morgentau
Muskatellersalbei, <i>Salvia sclarea</i> , Frankr.	SS5	Ch.: 08718-2	Primavera
Muskatellersalbei, <i>Salvia sclarea</i> , Frankr.	SS6	Ch.: 378356	Spinnrad

## 1.2 Authentisches Drogenmaterial

Das Authentische Drogenmaterial diene als Grundlage für die Gewinnung authentischer ätherischer Öle. Die Gewinnung der ätherischen Öle erfolgte nach der Methode „Gehaltsbestimmung des ätherischen Öls in Drogen“ (2.8.12) der Ph. Eur. 1997.

### Kiefern-/Latschenkiefernadeln

Frische Zweige mit Nadeln von Latschenkiefern aus Plantagen	LK25	Allga Pharma
Frische Zweige mit Nadeln von <i>P. sylvestris</i>	K14	Bot. Garten Uni Regensb.
Frische Nadeln von <i>P. sylvestris</i>	K13	Bot. Garten Uni Regensb.
Frische Zweige mit Nadeln von <i>P. mugo</i>	LK24	Bot. Garten Uni Regensb.
Frische Nadeln von <i>P. mugo</i>	LK23	Bot. Garten Uni Regensb.

### Fenchel

Fenchelfrüchte, bitter, Sorte "Bertena", Anbau 1998	F11		Agrimed Hessen
Fenchelfrüchte, süß, Sorte "De Florena", Saatgut 1998	F12		Agrimed Hessen
Fenchel süß, Frankr., Ernte 1998	F13	Ch.: 58367	M. Bauer
Fenchel süß, Frankr., Ernte 1999	F15	Ch.: 58369	M. Bauer
Fenchel süß, Türkei, Ernte 1998	F14	Ch.: 58368	M. Bauer
Bitterfenchelfrüchte	F10		Müggenburg
Fenchel Sort.-Nr. FOE 40/91 Korea	F20		Genbank Gatersleben
Fenchel Sort.-Nr. FOE 38/89 Italien	F17		Genbank Gatersleben
Fenchel Sort.-Nr. FOE 7/76	F21		Genbank Gatersleben
Fenchel Sort.-Nr. FOE 21/90	F18		Genbank Gatersleben
Fenchel Sort.-Nr. FOE 45/93 Kuba	F23		Genbank Gatersleben
Fenchel Sort.-Nr. FOE 31/89 Irak	F22		Genbank Gatersleben
Fenchel Sort.-Nr. 49389 (USA)	F19		FAL Braunschweig
Fenchel Sort.-Nr. 50833 (BRD)	F16		FAL Braunschweig



### Koriander

Koriander ganz, Bulgarien	C16	Ch.: 64781	M. Bauer
Koriander ganz, Bulgarien, Ernte 1999	C15	Ch.: 64786	M. Bauer
Koriander ganz, Marokko	C17	Ch.: 64832	M. Bauer
Koriander ganz, Rußland	C21	Ch.: 64831	M. Bauer
Koriander ganz, Serbien, Ernte 1998	C20	Ch.: 64785	M. Bauer
Koriander ganz, Ungarn	C19	Ch.: 64833	M. Bauer
Korianderfrüchte, <i>Coriandrum sativum</i>	C18		Caelo

### Bitterorangenblüten

Frische Blüten von Bitterorangenbäumen <i>C. aurantium</i> ssp. <i>aurantium</i>		Pharm. Biol. Uni Regensb.
Baum 1	N14	
Baum 2	N15	
Authentische Blüten aus Korsika	N16	Prof. Casanova, Korsika

### Salbei

Salbeiblätter conc., Albanien	S15	Ch.: 64779	M. Bauer
Salbeiblätter conc., Albanien	S16	Ch.: 64830	M. Bauer
Salbeiblätter conc., Ph. Eur. NT 1999	S17		Caelo

### 1.3 Standardsubstanzen

Fluka, Buchs, Schweiz	<i>trans</i> -Anethol, Anisaldehyd, (+)-Borneol, (-)-Borneol, (+)-Bornylacetat, (-)-Bornylacetat, (-)-Camphen, (+)-Campher, (-)-Campher, (+)-Carvon, (-)-Carvon, (-)- <i>trans</i> -Caryophyllen, Citral ( <i>cis+trans</i> ), p-Cymen, Decanal, Eucalyptol, (+)-Fenchon, Geraniol, Geranylacetat, $\alpha$ -Humulen, (+/-)-Lavandulylacetat, (R)(+)-Limonen, (S)(-)-Limonen, (+/-)-Linalool, (R)(-)-Linalool, Linalooloxid, Linalylacetat, Myrcen, Nerol, <i>cis</i> -Nerolidol, Nerylacetat, Ocimen, 3-Octanon, (R)(-)- $\alpha$ -Phellandren, (+/-)-1-Phenylethanol, 2-Phenylethanol, (-)- $\alpha$ -Pinen, (+)- $\beta$ -Pinen, (-)- $\beta$ -Pinen, (+)-Sabinen, (+)-Terpinen-4-ol, (+)- $\alpha$ -Terpineol, (-)- $\alpha$ -Terpineol, Terpinolen, (+/-)- $\alpha$ -Terpinylacetat, (-)- $\alpha$ -Thujon, Thujon ( $\alpha+\beta$ ), Vanillin
Merck, Darmstadt	(+)-Camphen, <i>cis+trans</i> Nerolidol, Thujon ( $\alpha+\beta$ )
Roth, Karlsruhe	<i>cis</i> -Anethol, 4-Anisaldehyd, (-)-Borneol, $\beta$ -Caryophyllen, Essigsäure-L-bornylester, Lavandulol, Linalool, <i>cis+trans</i> Linalooloxid, <i>trans</i> -Nerolidol, 3-Octanol, Sabinen, 4-Terpinenol, $\alpha$ -Thujen, $\alpha+\beta$ -Thujon, Valencen, Vanillin
Sigma-Aldrich, Taufkirchen	(+)-3-Caren, Caryophyllenoxid, Citral, Isoborneol, (+/-)- <i>trans</i> -Nerolidol, $\alpha$ -Terpinen, $\gamma$ -Terpinen, (+)-Terpinen-4-ol

## 1.4 GC-Säulen

*Säule A:* Stabilwax<sup>®</sup>, quervernetztes Macrogol 20 000, 30 m, 0,32 mm ID, 0,25 µm df, *Restek Europa* (Bad Soden)

*Säule B:* Supelcowax<sup>TM</sup>-10, gebundenes Macrogol 20 000, 60 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm df, *Supelco* (Deisenhofen)

*Säule C:* AT<sup>TM</sup>-WAX, gebundenes Macrogol 20 000, 25 m, 0,25 mm ID, 0,20 µm df, *Alltech* (Unterhaching)

*Säule D:* BGB-174<sup>®</sup>, 50 % 2,3-Diacetyl-6-tert-butyldimethylsilyl-β-cyclodextrin gelöst in BGB-1701 (14 % Cyanopropylphenyl-, 86%-methylpolysiloxan), 30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm df, *BGB Analytik Vertrieb* (Schloßböckelheim)

*Säule E:* BGB-174<sup>®</sup>, 50 % 2,3-Diacetyl-6-tert-butyldimethylsilyl-β-cyclodextrin gelöst in BGB-1701 (14 % Cyanopropylphenyl-, 86%-methylpolysiloxan), 50 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm df, *BGB Analytik Vertrieb* (Schloßböckelheim)

*Säule F:* BGB-175<sup>®</sup>, 50 % 2,3-Diacetyl-6-tert-butyldimethylsilyl-γ-cyclodextrin gelöst in BGB-1701 (14 % Cyanopropylphenyl-, 86%-methylpolysiloxan), 50 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm df, *BGB Analytik Vertrieb* (Schloßböckelheim)

*Säule G:* Hydrodex<sup>®</sup> β-3P, 50 % Heptakis-(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)-β-cyclodextrin verdünnt mit OV 1701 7 % Phenylsilicon, 5 % Cyanopropylsilicon, 88 % Methylsilicon), 50 m, 0,25 mm ID, *Macherey-Nagel* (Düren)

*Säule H:* Lipodex<sup>®</sup> E, Octakis-(2,6-di-O-pentyl-3-O-butyryl)-γ-cyclodextrin, 50 m, 0,25 mmID, *Macherey-Nagel* (Düren)

## **2. Methoden**

### **2.1 Gaschromatographie**

#### **2.1.1 GC-FID-Untersuchungen**

Gaschromatograph:	Fisons GC 8000 mit Autosampler AS 800, Fisons Instruments, Mailand
Aufzeichnungsgeschwindigkeit:	10 Punkte/sec (auf Softwareseite)
Brenngase für FID:	Wasserstoff 30 ml/min, Luft 614 ml/min
Injektionsvolumen:	Autosampler 1 µl des mit n-Heptan 1:50 verdünnten ätherischen Öls

Die Methoden für die einzelnen ätherischen Öle sind in den jeweiligen Kapiteln beschrieben.

Zur Quantifizierung der Inhaltsstoffe wird das Verfahren der "Normalisierung", auch 100%-Methode genannt, angewandt. Hierbei wird die gesamte Fläche unter dem Chromatogramm integriert. In der Folge können alle Haupt- und NebenkompONENTEN berechnet werden. Hierbei können in Abhängigkeit von der verwendeten Säule (stationäre Phase, Säulenlänge), Einspritztechnik (Split, Splitless, manuell, Autosampler, etc.) und dem Detektor erhebliche Schwankungen auftreten [27]. Die Berechnung der Inhaltsstoffe über einen internen Standard stellt eine genauere Methode dar, es kann damit aber nur eine begrenzte Anzahl an Komponenten gleichzeitig bestimmt werden. Der interne Standard sollte nahe der zu bestimmenden Substanz eluieren, eine ähnliche chemische Struktur aufweisen und in annähernd gleicher Konzentration zum Analyten eingesetzt werden. Aufgrund der einfacheren Handhabung hat sich die Normalisierung in den Arzneibüchern durchgesetzt, wobei Fehler bei der Quantifizierung der Inhaltsstoffe in Kauf genommen werden.

Die dargestellten Werte sind jeweils Mittelwerte aus drei Bestimmungen der entsprechenden ätherischen Öle.

### 2.1.2 GC-MS-Untersuchungen

Gaschromatograph:	Shimidazu GC-17A, Shimidazu, Duisburg
Detektion:	Massenselektiver Detektor Shimidazu MS-QP 5050 A
Anregungsenergie:	70 eV
Temperatur Interface:	250 °C
Temperatur Injektor:	220 °C
Scanning range:	40-500 m/z
Scanning rate:	1 scan/s
Auswertungs-Software:	CLASS 5000, Shimidazu, Duisburg
Injektion:	0,5 µl einer 1:50 Verdünnung des ätherischen Öls mit Heptan

Zur Bestätigung der Peakidentifizierung wurden zusätzlich die Kovats Indices der Substanzen auf zwei Säulen unterschiedlicher Polarität ermittelt.

Zur Bestimmung der Kovats-Indices wurde eine n-Alkan-Reihe der Kettenlängen C9 bis C18 verwendet. Die Retentionszeiten der Substanzen wurden mit einem linearen Temperaturprogramm ermittelt. Die Werte stimmten gut mit den Angaben von JENNINGS [113] und ADAM [114] überein.

Der Kovats-Index KI einer Verbindung x wurde nach folgender Formel berechnet [115]:

$$KI(x) = 100 \cdot n + 100 \cdot (N - n) \cdot \frac{\log t'_{r(x)} - \log t'_{r(n)}}{\log t'_{r(N)} - \log t'_{r(n)}}$$

n: Anzahl der C-Atome im kleineren (vor x eluierten) n-Alkan

N: Anzahl der C-Atome im größeren (nach x eluierten) n-Alkan

$t'_{r(x)}$ : Nettoretentionszeit der Verbindung x

$t'_{r(n)}$ : Nettoretentionszeit des kleineren n-Alkans

$t'_{r(N)}$ : Nettoretentionszeit des größeren n-Alkans

Säule 1: Supelcowax 10, 60m × 0,25 mm ID, Supelco, Deisenhofen  
Temperaturprogramm: 70 °C 0 min // 2 °C/min // 170 °C  
Trärgas: Helium, 1 ml/min  
Split: 1:20

Säule 2: SE54, 50 m × 0,25 mm ID, Macherey-Nagel, Düren  
Temperaturprogramm: 60 °C 0 min // 3 °C/min // 240 °C  
Trärgas: Helium, 1 ml/min  
Split: Splitless

## 2.2 Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatogramme wurden nach der Vorschrift (2.2.27) der Ph. Eur. 1997 angefertigt [1]. Es wurde stets mit Kammersättigung gearbeitet. Als stationäre Phase wurden Kieselgelplatten „DC-Alufolien 20 × 20 cm Kieselgel 60 F<sub>254</sub>“ der Fa. *Merck/Darmstadt* verwendet. Als mobile Phase wurden stets 100 ml des entsprechenden Lösungsmittelgemisches eingesetzt. Die Untersuchungslösungen wurden mit 10 µl Mikropipetten (Blaubrand®) aufgetragen. Nach dem Entwickeln wurde das DC unter dem Abzug getrocknet. Die Auswertung der Banden erfolgte bei UV 254 und UV 365. Danach wurde mit einem Sprühreagenz besprüht und die DC-Platte zum Ablauf der Reaktion in den Trockenschrank gelegt. Die Auswertung der Banden erfolgte bei Tageslicht.

Die Sprühreagenzien wurden nach den Vorgaben der Arzneibücher [1,4] folgendermaßen zubereitet:

*Anisaldehyd-Reagenz:* 0,5 ml Anisaldehyd *R* werden mit 10 ml Essigsäure 98 % *R*, 85 ml Methanol *R* und 5 ml Schwefelsäure *R* in der angegebenen Reihenfolge gemischt.

Für eine 20 × 20 cm DC-Platte werden ca. 10 ml Anisaldehyd-Reagenz benötigt. Nach dem Besprühen wird 10-15 min lang unter Beobachtung bei 100-105 °C erhitzt.

*Vanillin-Reagenz:* 100 ml einer Lösung von Vanillin *R* (10g/l) in Ethanol 96 % *R* werden sehr vorsichtig und tropfenweise mit 2 ml Schwefelsäure *R* versetzt. Nach dem Besprühen der DC-Platte wird etwa 10 min lang bei 100-105 °C bis zur optimalen Farbentwicklung erhitzt.

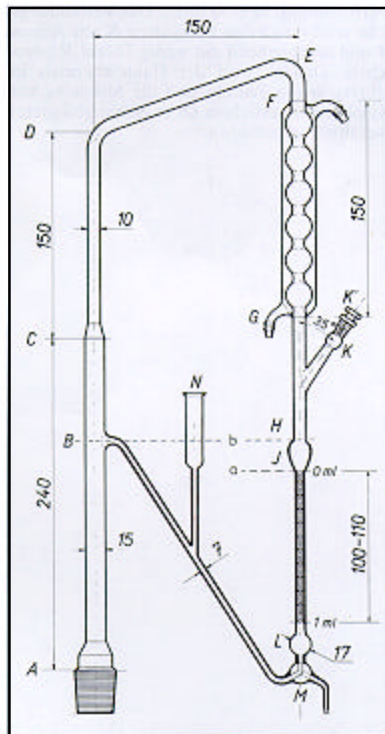
Die Lösung ist innerhalb von 48 h zu verwenden.

*Molybdat-Phosphorsäure-Reagenz:* 20 g Molybdatophosphorsäure *R* werden mit Ethanol 96 % *R* zu 100 ml gelöst. Nach dem Besprühen wird die DC-Platte 15 min lang bei 150 °C erhitzt. Die Lösung ist vor Gebrauch frisch herzustellen.

## 2.3 Wasserdampfdestillation

Das Drogenmaterial wurde einer Wasserdampfdestillation nach Ph. Eur. 1997 (2.8.12) unterzogen [1]. Dazu wurde das Drogenmaterial nach Zugabe von flüssigem Stickstoff gemahlen, die Bitterorangenblüten wurden unzerkleinert verwendet, getrocknete Salbeiblätter waren bereits geschnitten und wurden daher ebenfalls nicht vermahlen. Als Destillationsflüssigkeit wurde demineralisiertes Wasser, als Hilfsphase wurde anstelle von Xylol n-Heptan verwendet, da bei Xylol die Gefahr besteht, dass relevante Peaks überdeckt werden.

**Abb. 28** Apparatur zur Gehaltsbestimmung des ätherischen Öles in Drogen (Längenangaben in mm)





## Abkürzungsverzeichnis

AB	Arzneibuch
Abb.	Abbildung
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
biol. dyn. A.	biologisch dynamischer Anbau
bot.	Botanisch
C.	<i>Citrus</i>
Ch.	Charge
chem.	chemisch
conc.	concisus
DAB	Deutsches Arzneibuch
DAC	Deutscher Arzneimittel Codex
DC	Dünnschichtchromatographie, -chromatogramm
df	Filmdicke der stationären Phase (GC)
eV	Elektronenvolt
F.	<i>Foeniculum</i>
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatographie, -chromatogramm
h	Stunde
ID	Innerer Durchmesser
Int. Ch.	Interne Charge
ISO	International Standard Organization
kbA	kontrolliert biologischer Anbau
konz.	konzentriert
min	Minute
MS	Massenspektrometrie, -spektrum
m/z	Masse pro Ladung
nat.	natürlich
L.	<i>Lavandula</i>
o. g.	oben genannt
P.	<i>Pinus</i>

Ph. Eur.	Pharmakopoea Europaea/Europäisches Arzneibuch
Ph. Helv.	Pharmacopoea Helvetica
rektific.	rektifiziert
<i>S.</i>	<i>Salvia</i>
ssp.	Subspecies
syn.	synonym
synth.	synthetisch
Tab.	Tabelle
v. a.	vor allem
var.	Varietät
VT	Volumenteil(e)

## Literaturverzeichnis

- 1 Ph. Eur. 1997: Europäisches Arzneibuch 1997.
- 2 Ph. Eur. NT 2001: Europäisches Arzneibuch Nachtrag 2001.
- 3 Ph. Eur. Komm.: Kommentar zum Europäischen Arzneibuch.
- 4 DAB 2001: Deutsches Arzneibuch 2001.
- 5 Kommentar zum DAB 2001.
- 6 Deutscher Arzneimittel Codex, Stand 1. Nov. 2001.
- 7 Pharmacopoea Helvetica VII
- 8 British Pharmacopoeia 1998
- 9 USP 24: U. S. Pharmacopeia (Jan. 2000)
- 10 Teisseire P.J., translated by Cadby P.A.: Chemistry of Fragrant Substances. 1994 VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
- 11 Bauer K., Garbe D., Surburg H.: Common Fragrance and Flavor Materials. 1990 VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
- 12 GHo Bd. I, S. 1-18.
- 13 Schilcher H.: Ätherische Öle - Wirkungen und Nebenwirkungen. Dtsch. Apoth. Ztg. 124 (29), 1433-1442 (1984).
- 14 Hänsel R.: Therapeutische Anwendung ätherischer Öle in Carle R.: Ätherische Öle – Anspruch und Wirklichkeit. 1993 Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart.Hänsel
- 15 Rote Liste Win 2001/2, Editio Cantor Verlag.
- 16 Lis-Balchin M.: Essential oils and aromatherapy: their modern role in healing. J. Roy. Soc. Health 117 (5), 324-329 (1997).
- 17 Buchbauer G., Jirovetz L.: Aromatherapy - Use of Fragrances and Essential Oils as Medicaments. Flav. Fragrance 9 (5), 217-222 (1994).
- 18 Wolf E.: Geimpft auf Vorsorge - Kinderkrankheiten. Pharm. Ztg. 146 (33), 11-16 (2001).

- 19 Schüürmann J.: Aromatherapie – Anwendung ätherischer Öle keineswegs unbedenklich. Pädiat. Prax. 57, 279-280 (1999/2000).
- 20 Taylor D. R.: Chirale Trennung mittels GC in Baugh P. J.: Gaschromatographie – Eine anwenderorientierte Darstellung. Vieweg Verlagsges. mbH, Braunschweig/Wiesbaden (1997).
- 21 Gil-Av E., Feibush B., Charles-Sigler R.: Tetrahedron Lett., 1009 (1966).
- 22 Schurig V.: Enantiomer Analysis by Complexation Gas Chromatography. J. Chromatogr. 441, 135-153 (1988).
- 23 König W. A., Icheln D., Runge R., Pforr I., Krebs A.: Cyclodextrins as Chiral Stationary Phases in Capillary Gas Chromatography. J. High Resol. Chromatogr. 13, 702-707 (1990).
- 24 König W. A., Gehrcke B., Icheln D., Evers P., Könnecke J., Wang W.: New, Selectively Substituted Cyclodextrins as Stationary Phases for the Analysis of Chiral Constituents of Essential Oils. J. High Resolut. Chromatogr. 15, 367-372 (1992).
- 25 Dietrich A., Maas B., Karl V., Kreis P., Lehmann D., Weber B., Mosandl A.: Stereoisomeric Flavor Compounds. J. High Resolut. Chromatogr. 15, 176-179 (1992).
- 26 Schwarz M.: Methoden zur Bestimmung der pharmazeutischen Qualität verschiedener ätherischer Öle mittels achiraler und chiraler gaschromatographischer Analytik. Dissertation 1999, Universität Regensburg.
- 27 Joulain D.: Modern Analysis Methodologies: Use and Abuse. Perfum. Flav. 19 (2), 5-17 (1994).
- 28 Leistner E., Breckle S.-W.: Pharmazeutische Biologie I. 4. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart, New York (1992).
- 29 Frohne D., Jensen U.: Systematik des Pflanzenreichs. 5. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsges., Stuttgart (1998).
- 30 Fintelmann V., Menßen H.G., Siegers C.P.: Phytotherapie Manual. 2. Auflage 1993 Hippokrates Verlag, Stuttgart.
- 31 Pauly G., Gleizes M., Bernard-Dagan C.: Identification des constituants de l'essence des aiguilles de *Pinus pinaster*. Phytochemistry 12, 1395-1398 (1973).
- 32 Kartnig Th., Fischer U., Bucar F.: Vergleichende gaschromatographische Untersuchungen an Latschenkieferölen. Sci Pharm. 64, 487-496 (1996).
- 33 Kartnig Th., Fischer U., Bucar F.: Vergleichende gaschromatographische Untersuchungen an Latschenkieferölen, 2. Mitteilung. Sci Pharm. 65, 289-297 (1997).
- 34 Hiltunen R.: Variation and Inheritance of some Monoterpenes in *Pinus sylvestris*. Planta Med. 28, 315-323 (1975).

- 35 Von Rudloff E.: Volatile Leaf Oil Analysis in Chemosystematic Studies of North American Conifers. *Biochem. Syst. Ecol.* 2, 131-167 (1975).
- 36 Reichling J., Harkenthal M.: Latschenkiefernöl. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 138 (38), 47-54 (1998).
- 37 Laux P.: Pinus. In Hänsel R., Keller K., Rimpler H., Schneider G. (Hrsg.): *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*, 5. Aufl., Band 6, Springer Verlag Berlin/Heidelberg/New York, 158-199 (1994).
- 38 Harkenthal M., Reichling J., Geiss H. K.: Oxidationsprodukte als mögliche Ursache von Kontaktdermatitiden. *Pharm. Ztg.* 143 (47), 26-30 (1998).
- 39 Glasl H., Wagner H.: Gaschromatographische Untersuchung von Arzneibuchdrogen (I). *Dtsch. Apoth. Ztg.* 120 (2), 64-67 (1980).
- 40 Gleizes M., Marpeau A., Pauly G., Bernard-Dagan C.: Role of Acyclic Compounds in Monoterpene Biosynthesis in *Pinus pinaster*. *Phytochemistry* 21 (11), 2641-2644 (1982).
- 41 Kreis P., Hener U., Mosandl A.: Chirale Inhaltsstoffe ätherischer Öle. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 130 (18), 985-988 (1990)
- 42 Martinek A.: Untersuchungen über die Monoterpene des Latschenkieferöls. *Planta Med.* 21 (3), 201-208 (1969).
- 43 Krüger H., Hammer K.: Chemotypes of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.); *J. Essent. Oil Res.* 11, 79-82 (1999).
- 44 Hegi G.: *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*. 1975 Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1284-1290.
- 45 GHo Bd. VI, S. 432-442.
- 46 Brand N.: *Foeniculum*. In Hänsel R., Keller K., Rimpler H., Schneider G. (Hrsg.): *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*, 5. Auflage, Band 5. Springer Verlag Berlin/Heidelberg/New York, 156-181, (1993).
- 47 Bernáth J., Németh É., Kattaa A., Héthelyi É.: Morphological and Chemical Evaluation of Fennel Populations of Different Origin. *J. Essent. Oil Res.* 8, 247-253 (1996).
- 48 Guillén M. D., Manzanos M. J.: A Contribution to Study Spanish Wild Growing Fennel as a Source of Flavour Compounds. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 16 (5/6), 141-145 (1994).
- 49 Bundesanzeiger Nr. 74 vom 19.04.1991
- 50 Kartnig Th., Fischer U., Bucar F.: Vergleichende gaschromatographische Untersuchungen an ätherischen Wacholderölen, Fenchelölen und Rosmarinölen. *Sci. Pharm.* 66, 237-252 (1998).

- 51 Ehlers D., Färber J., Martin A., Quirin K.W., Gerard D.: Untersuchung von Fenchelölen - Vergleich von CO<sub>2</sub>-Extrakten und Wasserdampfdestillaten. Dtsch. Lebensm. Rundsch. 96 (9), 330-335 (2000).
- 52 Kraus A., Hammerschmidt F.J.: Untersuchungen an Fenchelölen. Dragoco report 27 (2), 31-40 (1980).
- 53 Essential oils: market report; Cossma 1(2), 35-37 (2000).
- 54 García-Jiménez N., Pérez-Alonso M., Velasco-Negueruela A.: Chemical Composition of Fennel Oil, *Foeniculum vulgare* Mill., from Spain. J. Essent. Oil Res. 12, 159-162 (2000).
- 55 Piccaglia R., Marotti M.: Characterization of Some Italian Types of Wild Fennel. J. Agric. Food Chem. 49, 239-244 (2001).
- 56 Badoc A., Deffieux G.: Essential Oil of *Foeniculum vulgare* Mill. (Fennel) subsp. *piperitum* (Ucria) Cout. Fruit. J. Essent. Oil Res. 6, 333-336 (1994).
- 57 Kiefl B.: Untersuchungen zur Stabilität von Ätherischöldrogen. Dissertation 1998, Universität Regensburg.
- 58 Koller W.D., Range P.: Geruchsprägende Inhaltsstoffe von Fenchel und Ysop. Z. Arnz. Gew.pfl. 2, 73-80 (1997).
- 59 Baratta M. T., Dorman D., Deans S., Biondi D., Ruberto G.: Chemical Composition and Antioxidative Acitivity of Laurel, Sage, Rosemary, Oregano and Coriander Essential Oils. J. Essent. Oil Res. 10, 618-627 (1998).
- 60 Anitescu G., Doneanu C., Radulescu V.: Isolation of Coriander Oil: Comparison Between Steam Distillation and Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction. Flavour Fragr. J. 12, 173-176 (1997).
- 61 Lawrence B. M.: Progress in Essential Oils. Perfum. Flav. 22, 49-56 (1997).
- 62 Frank C., Dietrich A., Kremer U., Mosandl A.: GC-IRMS in the Authenticity Control of the Essential Oil of *Coriandrum sativum* L. J. Agric. Food Chem. 43, 1634-1637 (1995).
- 63 Tateo F., Bononi M., De Dominicis E., Fumagalli V.: Update on enantiomeric composition of (1R)-(+)- and (1S)-(-)-camphor in essential oils by enantioselective gas chromatography. Anal. Commun. 36 (4), 149-151 (1999).
- 64 Bandoni A. L.: Composition and Quality of the Essential Oil of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) from Argentina. J. Essent. Oil Res. 10, 581-584 (1998).
- 65 GHo Bd. VI, S. 356-367.

- 66 Mosandl A., Juchelka D.: The bitter orange tree – a source of different essential oils. In Kruse H. P., Rothe M.: Flavour perception, Proc. 5<sup>th</sup> Wartburg Symp. Eigenverlag Deutsch. Inst. f. Ernährungsforsch., 321-331 (1997).
- 67 Anonis D. P.: Neroli in Perfumery. *Perfum. Flav.* 9, 7-10 (1985).
- 68 Juchelka D.: Zur Authentizität von Citrusölen. Dissertation 1998, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main.
- 69 Mosandl A., Juchelka D.: Advances in the Authenticity Assessment of Citrus Oils. *J. Essent. Oil Res.* 9, 5-12 (1997).
- 70 Boelens M. H., Boelens H.: Differences in Chemical and Sensory Properties of Orange Flower and Rose Oils Obtained from Hydrodistillation and from Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction. *Perfum. Flav.* 22 (3), 31-35 (1997).
- 71 Prager M. J., Miskiewicz M. A.: Gas Chromatographic – Mass Spectrometric Analysis, Identification and Detection of Adulteration of Perfumery Products from Bitter Orange Trees. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 64 (1), 131-138 (1981).
- 72 Mondello L., Dugo P., Bartle K. D., Frere B., Dugo G.: On-Line High Performance Liquid Chromatography Coupled with High Resolution Gas Chromatography and Mass Spectrometry (HPLC-HRGC-MS) for the Analysis of Complex Mixtures Containig Highly Volatile Compounds. *Chromatographia* 39 (9/10), 529-538 (1994).
- 73 Werkhoff P., Brennecke S., Bretschneider W., Güntert M., Hopp R., Surburg H.: Chirospecific analysis in essential oil, fragrance and flavor research. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 196, 307-328 (1993).
- 74 Ohloff G.: Riechstoffe und Geruchssinn: die molekulare Welt der Düfte. 1990 Springer Verlag Berlin Heidelberg.
- 75 Juchelka D., Steil A., Witt K., Mosandl A.: Chiral Compounds of Essential Oils. XX. Chirality Evaluation and Authenticity Profiles of Neroli and Petitgrain Oils. *J. Essent. Oil Res.* 8, 487-497 (1996).
- 76 Schubert V., Dietrich A., Ulrich T., Mosandl A.: The Stereoisomers of Nerolidol: Separation, Analysis and Olfactoric Properties. *Z. Naturforsch.* 47c, 304-307 (1992).
- 77 GHo Band V, 627-639.
- 78 Ravid U., Putievsky E., Katzir I.: Chiral GC Analysis of Enantiomerically Pure (R)(-)-Linalyl Acetate in some Lamiaceae, Myrtle and Petitgrain Essential Oils. *Flavour Fragr. J.* 9, 275-276 (1994).
- 79 Lis-Balchin M., Hart S.: Studies on the mode of action of the essential oil of lavender; *Phytother-Res.*, 13(6), 540 (1999).
- 80 Buchbauer G., Jirovetz L., Jäger W, Dietrich H., Plank C., Karamat E. *Z. Naturforsch.* 46c, 1067-1072 (1991).

- 81 Lawless J.: Aromatherapie. 1999 Könenmann Verlagsgesellschaft mbH, Köln.
- 82 GHo Band VII, 18-79.
- 83 Protzen K.-D.: Produktion und Marktbedeutung ätherischer Öle in Carle R.: Ätherische Öle - Anspruch und Wirklichkeit. 1993 Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart.
- 84 Agnel R., Teisseire P.: Essential oil of French Lavender - Its composition and its adulteration; *Perfum. Flav.* 9, 53-56 (1984).
- 85 Morin P., Richard H. In Adda J. (Hrsg.): *Progress in Flavour Research*. Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam, 563-576 (1985).
- 86 Mosandl A., Schubert V.: Stereoisomere Aromastoffe, Chirale Inhaltsstoffe ätherischer Öle; *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 190, 506-510 (1990).
- 87 Hener U., Braunsdorf R., Kreis P., Dietrich A., Maas B., Euler E., Schlag B., Mosandl A.: Chiral compounds of essential oils; *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 14, 129-133 (1992).
- 88 Kreis P., Dietrich A., Juchelka D., Mosandl A.: Methodenvergleich zur Stereodifferenzierung von Linalool und Linalylacetat in ätherischen Ölen von *L. angustifolia*; *Pharm. Ztg. Wiss.* 5/6, 149-155 (1993).
- 89 Casabianca H., Graff J. B., Faugier V., Fleig F., Grenier C.: Enantiomeric Distribution Studies of Linalool and Linalyl Acetate. *J. High Resol. Chromatogr.* 21, 107-111 (1998).
- 90 Kreis P., Mosandl A.: Chiral Compounds of Essential Oils. Part XI. Simultaneous Stereoanalysis of *Lavandula* Oil Constituents. *Flavour Fragr. J.* 7, 187-193 (1992).
- 91 Shapiro S., Meier A., Guggenheim B.: The antimicrobial activity of essential oils and essential oil components towards oral bacteria. *Oral Microbiol. Immunol.* 9 (4), 202-208 (1994).
- 92 Taddei I., Giachetti D., Taddei E., Mantovani P.: Spasmolytic activity of Peppermint, Sage and Rosemary essences and their major constituents. *Fitoterapia* 59 (6), 463-468 (1988).
- 93 Debelmas A. M., Rochat J.: Pharmacologic study of essential oils; antispasmodic activity of fifty samples. *Plant. Med. Phytother.* 1 (1), 23-27 (1967).
- 94 Brieskorn C. H.: Salbei – seine Inhaltsstoffe und sein therapeutischer Wert. *Z. Phytother.* 12, 61-69 (1991).
- 95 Millet Y., Jougla J., Steinmetz M. D., Tognetti P., Joanny P., Arditti J.: Toxicity of some essential plant oils. Clinical and experimental study. *Clin. Toxicol.* 18 (12), 1485-1498 (1981).



- 96 Saller R., Hellstern A., Hellenbrecht D.: Chemische und toxikologische Eigenschaften von Thujon. Internist. Prax. 36, 553-556 (1996).
- 97 Kustrak D., Kuftinec J., Blazevic N.: Yields and Composition of Sage Oils from Different Regions of the Yugoslavian Adriatic Coast. J. Nat. Prod. 47 (3), 520-524 (1984).
- 98 Perry N. B., Baxter A. J., Brennan N. J., Van Klink J. W., Joulain D.: Dalmatian Sage. Part 1. Differing Oil Yields and Compositions from Flowering and Non-flowering Accessions. Flavour Fragr. J. 11, 231-238 (1996).
- 99 Perry N., Anderson R., Brennan N., Douglas M., Heaney A., McGimpsey J., Smallfield B.: Essential Oils from Dalmatian Sage: Variations among Individuals, Plant Parts, Seasons, and Sites. J. Agric. Food Chem. 47, 2048-2054 (1999).
- 100 Boelens M. H., Boelens H.: Chemical and Sensory Evaluation of Three Sage Oils. Perfum. Flav. 22 (2), 19-48 (1997).
- 101 Pace L., Piccaglia R.: Characterization of the Essential Oil of a Wild Italian Endemic Sage: *Salvia officinalis* L. var. *angustifolia* TEN. (Labiatae). J. Essent. Oil Res. 7, 443-446 (1995).
- 102 Koedam A.: Composition of the Volatile Oils from Dalmatian Rosemary and Sage. Fitoterapia 53 (4), 125-141 (1982).
- 103 Formacek V., Kubeczka K. H.: Sage Oil in Formacek V.: Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR. John Wiley & Sons, Chichester 259-271 (1982).
- 104 Laenger R., Mechtler C., Jurenitsch J.: Composition of the Essential Oils of Commercial Samples of *Salvia officinalis* L. and *S. fruticosa* MILLER: A Comparison of Oils Obtained by Extraction and Steam Distillation. Phytochem. Anal. 7, 289-293 (1996).
- 105 Pitarevic I., Kuftinec J., Blazevic N., Kustrak D.: Seasonal Variation of Essential Oil Yield and Composition of Dalmatian Sage, *Salvia officinalis*. J. Nat. Prod. 47 (3), 409-412 (1984).
- 106 Hegi G.: Illustrierte Flora von Mitteleuropa. Band V. 1975 Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 2475-2506.
- 107 Asllani U.: Chemical Composition of Albanien Sage Oil (*Salvia officinalis* L.). J. Essent. Oil Res. 12, 79-84 (2000).
- 108 Guillen M. D., Ibargoitia M. L.: Wild Growing Spanish Sage as a Raw Material in the Food Industry. Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. 17 (5/6), 129-134 (1995).
- 109 Catsiotis S., Iconomou N. G.: Qualitative and Quantitative Comparative Gas-Liquid-Chromatographic Analysis of the Essential Oil of *Salvia triloba* Grown in Greece. Pharm. Acta Helv. 59 (1), 29-32 (1984).

- 110 Kustrak D.: Griechischer Salbei in der dalmatinischen Flora. *Pharm. Acta Helv.* 62 (1), 7-13 (1987).
- 111 Ravid U., Putievsky E., Katzir I.: Determination of the Enantiomeric Composition of (1R)(+)- and (1S)(-)-Camphor in Essential Oils of Some Lamiaceae and Compositae Herbs. *Flavour Fragr. J.* 8, 225-228 (1993).
- 112 Ravid U., Putievsky E., Katzir I.: Stereochemical Analysis of Borneol in Essential Oils Using Permethylated  $\beta$ -Cyclodextrin as a Chiral Stationary Phase. *Flavour Fragr. J.* 11, 191-195 (1996).
- 113 Jennings W., Shibamoto R.: Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glas Capillary Gas Chromatography. Academic Press, London, New York, Sydney, Toronto, San Francisco (1980)
- 114 Adams P. A.: Identification of Essential Oil Components by GC/MS. Allured Publishing Corporation, Carol Stream/Illinois (1995).
- 115 Kovats E.: *Helv. Chim. Acta* 41, 1915 (1958).

## Liste der Vorträge, Posterpräsentationen und Publikationen

### **Eigener Vortrag:**

Braun M., Franz G.: Beiträge zur Verbesserung der Arzneibuchmonographien ätherischer Öle.  
Vortrag auf dem 7. Donausymposium in St. Urban (Kärnten/Österreich) (2001).

### **Posterpräsentation:**

Braun M., Schwarz M., Franz G., Hempel B.: D-Camphor - A Solid Essential Oil.  
Poster auf dem 30<sup>th</sup> International Symposium on Essential Oils in Leipzig (1999).

Braun M., Franz G.: Quality Criteria for the Essential Oils of Bitter and Sweet Fennel Fruits.  
Poster auf dem GA-/ISE-Kongress in Zürich (Schweiz) (2000).

Braun M., Franz G.: Necessity of Chiral Capillary Columns for GC Analysis of Pharmacopoeia  
Essential Oils.  
Poster auf dem 31<sup>st</sup> International Symposium on Essential Oils in Hamburg (2000).

### **Publikation:**

Braun M., Franz G.: Quality Criteria of Bitter Fennel Oil in the German Pharmacopoeia.  
Pharm. Pharmacol. Lett. 9 (2), 48-51 (1999).

Braun M., Schwarz M., Franz G.: Enantioselective GLC for Quality Management of Caraway  
Oil. Pharm. Pharmacol. Lett. 10 (1), 31-33 (2000).

Braun M., Franz G.: Qualität ätherischer Öle - Chirale Säulen decken Verfälschungen auf.  
Pharm. Ztg. 146 (29), 11-17 (2001).